

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1934

N° 29

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLÔME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1934

PAR

André GUGUEN

Né le 27 Septembre 1910, à PLOUBALAY (Côtes-du-Nord)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU B. C. G.

SON INNOCUITÉ CHEZ LE CHIEN

JURY

Président : M. Léon BERNARD, Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Assesseurs : M. ROBIN.

M. PANISSET.

} Professeurs à l'Ecole Nationale
Vétérinaire d'Alfort.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1934

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU B. C. G.
SON INNOCUITÉ CHEZ LE CHIEN



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Année 1934

N° 29

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(DIPLOME D'ÉTAT)

Soutenue devant la Faculté de Médecine de Paris en 1934

PAR

André GUGUEN

Né le 27 Septembre 1910, à PLOUBALAY (Côtes-du-Nord)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DU B. C. G.

SON INNOCUITÉ CHEZ LE CHIEN

JURY

Président : M. Léon BERNARD, Professeur à la Faculté de Médecine de Paris

Assesseurs : M. ROBIN.

M. PANISSET.

} Professeurs à l'Ecole Nationale
Vétérinaire d'Alfort.

PARIS

VIGOT FRÈRES, ÉDITEURS

23, RUE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE, 23

1934

PERSONNEL ENSEIGNANT DE L'ÉCOLE VÉTÉRINAIRE D'ALFORT

Directeurs honoraires : MM. P.-J. CADIOT, H. VALLÉE et E. NICOLAS

Directeur : M. BRESSOU

Professeurs honoraires : MM. G. BARRIER, Inspecteur général honoraire des Ecoles Vétérinaires, P.-J. CADIOT, DECHAMBRE, H. VALLÉE

PROFESSEURS ET CHARGÉS DE COURS

	MM.
Anatomie descriptive des animaux domestiques.....	BRESSOU.
Physiologie, thérapeutique générale.....	MAIGNON.
Physique et Chimie médicales, toxicologie, pharmacie.	NICOLAS.
Parasitologie et maladies parasitaires, clinique, Zoologie	HENRY.
Pathologie médicale des équidés et des carnassiers, clinique ; sémiologie et propédeutique, jurisprudence.	ROBIN.
Pathologie chirurgicale des équidés et des carnassiers, clinique ; anatomie chirurgicale, médecine opératoire et ferrure.....	COQUOT.
Pathologie bovine, ovine, caprine, porcine et aviaire, clinique ; médecine opératoire, obstétrique.....	LESBOUYRIES.
Pathologie générale et microbiologie, maladies microbiennes et police sanitaire, clinique.....	PANISSET.
Histologie et embryologie, anatomie pathologique ; autopsies.	PETIT.
Zootéchnie et économie rurale.....	LETARD.
Agronomie, botanique et hygiène ; matière médicale..	SIMONNET.
Industrie et contrôle des produits d'origine animale..	VERGE.

PROFESSEUR AGRÉGÉ

M. SIMONNET

CHEFS DE TRAVAUX

MM. MONVOISIN, MOUSSU (R.), VALADE, GORET, BRION, BERTHELON, CARPENTIER

La Faculté de Médecine et l'Ecole Vétérinaire déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation, ni improbation.



A MES PARENTS

Faible témoignage de ma profonde
affection et de ma reconnaissance.

A MON JEUNE FRÈRE

In memoriam.

A MA SŒUR, A MON FRÈRE AÎNÉ

Témoignage de ma sincère affection.

AUX MIENS, A MES AMIS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR LÉON BERNARD

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre Jury.

Hommage respectueux.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR C. GUERIN
de l'Institut Pasteur de Paris

A MONSIEUR LE PROFESSEUR ROBIN

A MONSIEUR LE PROFESSEUR PANISSET

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU B. C. G. SON INNOCUITÉ CHEZ LE CHIEN

Introduction

Au cours des années d'étude que nous venons de terminer, notre attention a été attirée par une maladie pour laquelle le chien présente une grande réceptivité: la Tuberculose.

S'il est aisé de diagnostiquer la maladie, soit par la constatation de certains signes cliniques (pleurésie, ascite, ostéopériostite) soit, dans les cas de suspicion par les épreuves de la tuberculine et de la déviation du complément, le pronostic en est toujours d'une extrême gravité, et, en raison de la malignité des formes évolutives chez le chien, le traitement est toujours voué à un insuccès complet.

On en est réduit dans tous les cas à sacrifier le malade. Cette sacrification s'impose avec d'autant plus d'urgence que le chien tuberculeux est un péril permanent pour son entourage.

Il y aurait intérêt à préserver le chien de cette terrible maladie. Non seulement on conserverait ainsi des animaux qui, pour des raisons diverses, économiques ou sentimentales ont parfois une valeur considérable, mais on supprimerait une source de virus et une cause de contamination de l'homme.

Il ne saurait d'ailleurs être question de soumettre tous les chiens à la vaccination. Il en est, les chiens

de bergers, les chiens de chasse, qui ne sont guère exposés à contracter la tuberculose. D'autres, au contraire, ceux qui sont entretenus dans les lieux publics, les cafés en particulier, de même que ceux qui vivent au contact d'individus atteints de tuberculose ouverte, courent de sérieux risques et bénéficieraient à coup sûr de la mise en œuvre d'un procédé efficace de vaccination.

Nous avons pensé dans cet ordre d'idées à l'utilisation de la vaccination de Calmette et Guérin. Mais une première expérience devait être faite : il fallait savoir si le B. C. G. n'était pas capable, en passant par l'organisme du chien de redevenir pathogène.

C'est à l'étude de l'innocuité de ce germe pour l'animal en question qu'est consacré ce travail où nous étudierons successivement :

La tuberculose canine, sa fréquence et ses dangers pour l'homme.

Le B. C. G. Principe de la vaccination. Cultures. Conservation.

L'histoire de sa virulence.

Son inoculation au chien par voie sous-cutanée avec réactions locale et générale ; son inoculation par voie endoveineuse avec réaction générale.

Après avoir relaté nos observations, nous nous efforcerons d'en tirer une conclusion.

Si l'on veut bien accorder quelque valeur à notre modeste travail, nous désirons que le mérite en soit attribué à M. le Professeur ROBIN. Après nous avoir aimablement accueilli dans son service, il nous donna l'idée de cette étude, nous guida de ses sages conseils et nous soutint de ses encouragements. Il fut pour nous le plus bel exemple de labeur et de dévouement, et nous le prions de trouver en l'hommage que nous lui faisons de cette thèse, l'expression de notre profonde reconnaissance.

Nous avons aussi l'agréable devoir de remercier M. RINJARD, directeur adjoint du laboratoire national des recherches, qui, avec une inlassable complaisance nous a initié à l'entretien des cultures de B. C. G., et à la technique de la préparation des émulsions.

CHAPITRE PREMIER

La tuberculose canine

Fréquence - Danger pour l'homme

Avant d'entreprendre l'étude des effets de l'inoculation du bacille bilié de Calmette et Guérin au chien, il nous a paru utile de montrer la fréquence relative de la tuberculose chez cet animal, et d'examiner rapidement le danger que le sujet qui en est atteint présente pour l'homme.

Fréquence

En 1891, JENSEN, de Copenhague, publie une statistique portant sur 28 cas de tuberculose du chien.

Le professeur CADIOT, en 1893, dans sa brochure *La Tuberculose du chien* montre la fréquence de cette maladie en France et la facilité de la contamination du chien par l'homme ; il relate 40 cas observés à la clinique de l'Ecole d'Alfort en l'espace de deux ans.

Depuis lors, de nombreux auteurs ont établi sa fréquence.

Le professeur Gabriel PETIT, en 1905, à l'occasion du Congrès international de la Tuberculose, rapporte une proportion de 9% d'animaux reconnus atteints à

l'autopsie, et signale que ce taux s'est rapidement accru puisqu'il n'était que de 4 1/2 % en 1899.

Dans la région Toulousaine, SENDRAIL, LASERRE et LESBOURYÈS donnent en 1913 une proportion de 0,8 % alors qu'en 1906 SENDRAIL et GUILLÉ donnaient un pourcentage inférieur à 0,1.

En 1910, le Professeur DOUVILLE, alors chef de clinique à l'Ecole vétérinaire d'Alfort, rapporte une statistique portant sur 20.000 examinés dans laquelle il donne une proportion de 4 %.

De ces statistiques il ressort que la tuberculose du chien est surtout fréquente à Paris, sans doute en raison du nombre considérable de chiens vivant dans cette agglomération où l'hygiène est souvent défec-tueuse.

Quant à la progression du pourcentage elle n'est qu'apparente et tient, ainsi que le Professeur CADIOR l'a fait remarquer « à ce que la tuberculose a été plus systématiquement recherchée, à une plus large application de la tuberculine chez les sujets suspects et à l'extension de son domaine anatomopathologique. ».

A l'étranger, nous trouvons des statistiques analogues. Ce sont des taux de 0,6 % à Bruxelles, de 2,7 % à Dresde ; en Roumanie, M. Mihailescu donne comme proportion un chiffre de 5 %.

Signalons la statistique que JOEST a publiée en 1921 ; il a fait en 1913 et 1914 les autopsies des chiens livrés à l'usine de destruction des cadavres de la ville de Berlin ; la provenance en était assez variée, comme on le conçoit aisément. Les autopsies ont porté sur 4.683 chiens ; les procès-verbaux d'autopsie prouvaient que 75 chiens dont 52 mâles et 23 femelles étaient atteints de tuberculose, 1.724 chiens étaient mâles, il reste donc que la tuberculose est plus fréquente chez le chien que chez la chienne.

Aucun chien ayant moins de 2 ans n'était atteint.
Pour les plus âgés :

3 ans. Il donne un pourcentage de	0,6
3 à 4 ans.....	0,75
4 à 5 ans.....	2,
5 à 8 ans.....	7,
8 à 10 ans.....	7,5
Plus de 10 ans.....	2

Nous ne connaissons aucune statistique analogue dans la littérature médicale française, mais la tuberculose canine est une constatation journalière à la clinique d'Alfort et ainsi que le professeur LESBOUYRIES l'écrivait en 1926, « on peut affirmer que le taux de la morbidité par tuberculose qui oscillait il y a 20 ans entre 3 et 4 % dans les villes, dépasse actuellement 8 % ».

Pour certains, dont le professeur ROBIN, la tuberculose, maladie de l'âge adulte, est exceptionnellement constatée sur des sujets jeunes.

Nous croyons avoir remarqué que le berger allemand en est la principale victime à Paris et cela sans doute pour des raisons de vogue analogues à celles qui ont permis à JOEST d'expliquer la plus grande fréquence de cette maladie chez le fox-terrier en Allemagne avant la guerre.

Il ressort de ce rapide exposé que la tuberculose est une maladie commune du chien. Fréquente, cette affection présente en outre un certain nombre de points communs avec celle de l'homme, en sorte qu'elle crée pour celui-ci un danger permanent ainsi que nous allons le voir.

Danger de contamination de l'homme par le chien

Ce danger réside dans une communauté d'habitat, dans l'origine humaine de la tuberculose du chien, le type humain du bacille en cause et surtout dans une importante excrétion de bacilles par le sujet malade.

COMMUNAUTÉ D'HABITAT

Pendant longtemps le chien ne fut pas admis à loger sous le même toit que son maître, ce privilège était réservé au chat. Le chien vivait à l'extérieur, remplissant souvent le rôle de gardien nocturne, ainsi d'ailleurs que cela se fait encore hors des villes. Mais la civilisation moderne poussant l'homme à s'occuper des animaux, à les protéger, à améliorer leurs conditions de vie, a fait pénétrer le chien dans le logis de son maître, et ceci sans distinction de format. On est quelquefois surpris d'être accueilli dans certains appartements par les caresses de chiens bergers et même parfois de dogues allemands.

S'il est de cette façon devenu souvent le commensal de son maître, le chien reçoit toujours pour le moins une excellente pâtée constituée des restes de la table. Sa vie présente dès lors une relation étroite et continue avec celle de l'homme et l'on imagine que, réceptif à la tuberculose, il peut être aisément victime de sa contamination.

ORIGINE DE LA TUBERCULOSE DU CHIEN
TYPE DU BACILLE EN CAUSE

Le plus souvent la tuberculose canine est d'origine humaine. Dès 1839, MALIN montre les relations qui existent entre la tuberculose humaine et celle des carnivores.

Divers auteurs, parmi lesquels NOCARD, citent des cas de tuberculose évoluant sur des chiens qui vivaient au contact de leurs maîtres tuberculeux.

Enfin, en 1893, CADIOT pouvait écrire : « Sur mes quarante chiens tuberculeux, neuf appartenaient à des restaurateurs, cafetiers ou marchands de vins ».

A la clinique de l'Ecole d'Alfort, rares sont actuellement les cas de tuberculose canine pour lesquels une enquête auprès du propriétaire ne permet pas de suspecter l'origine humaine de l'affection. Ce sont tantôt des sujets qui se sont infectés dans les lieux publics de réunion notamment en lèchant les crachats ou en ramassant les restes sous les tables des cafés, restaurants; tantôt des sujets qui ont la fâcheuse habitude de faire chaque matin la tournée des boîtes à ordures du quartier; tantôt enfin des sujets qui se sont contaminés au contact de phtisiques dans l'entourage desquels la vie en appartement les obligeait à évoluer en permanence.

PARK et KRUMWIEDE ont établi des statistiques sur l'infection de l'homme aux différents âges par les divers types de bacilles tuberculeux.

Ils donnent, de 0 à 5 ans, 76,5 % de bacille tuberculeux humain et 23,5 % de bacille tuberculeux bovin.

Ils donnent, de 5 à 15 ans, 75 % de bacille tuberculeux humain et 25 % de bacille tuberculeux bovin.

A partir de 16 ans, 98,5 % de bacille tuberculeux humain et 1,5 % de bacille tuberculeux bovin.

Ceci indique assez que l'homme est porteur de bacille humain dans la majeure partie de sa vie et notamment à partir du moment où il fréquente les cafés. De là à déduire que le chien tuberculeux doit être le plus souvent porteur de bacille humain il n'y a qu'un pas, et s'il n'existe à notre connaissance aucune statistique basée sur des recherches bactériologiques établissant la nature du bacille en cause, les quelques auteurs qui s'en sont occupés, entre autres le professeur LESBOUYRIES en 1926, ont cependant trouvé chaque fois des bacilles humains.

Dès lors il ne paraît pas douteux que le chien, contaminé par l'homme, porteur d'un bacille humain, puisse ainsi que CALMETTE le faisait remarquer « devenir à son tour pour ses maîtres un hôte dangereux en raison de son étroite domesticité ».

Ce danger paraît encore plus évident si l'on envisage que le chien tuberculeux est le plus souvent un excréteur de bacilles.

LE CHIEN EXCRÉTEUR DE BACILLES

En dehors des individus sains et des sujets sains en incubation de maladie ou encore des sujets guéris, on sait que des animaux atteints de localisations tuberculeuses, que l'on a coutume d'appeler fermées, peuvent excréter des bacilles en quantité très appréciable.

De même qu'il n'est pas nécessaire à une vache de présenter des lésions mammaires pour éliminer des bacilles dans son lait, de même des chiens atteints de pleurésie, d'ascite, de péricardite, d'ostéo-arthrites, d'ostéopériostites, toutes localisations très fréquentes, ou encore porteurs de lésions de l'endocarde, du myocarde, des ganglions et vaisseaux lymphatiques, de l'œil, du système nerveux enfin, pour ne citer que les

principales, sont susceptibles d'être des semeurs de bacilles.

Toutefois, il semble bien établi que la plus importante élimination de bacilles est produite par les lésions de tuberculose ouverte dont pour le chien, celles de l'appareil digestif, de l'arbre respiratoire, du rein et de la peau sont les plus importantes.

APPAREIL DIGESTIF. — Il constitue en général la porte d'entrée de l'infection. Aussi n'est-il pas surprenant de le voir fréquemment atteint.

La tuberculose des premières voies, notamment du pharynx, n'est pas exceptionnelle; et si les localisations pancréatiques sont rares, il n'en n'est pas de même pour l'intestin et le foie.

L'entérite chronique reconnaît dans quelques cas pour cause la tuberculose. Qu'elle se manifeste par des lésions inflammatoires intéressant la muqueuse seule, des granulations sous muqueuses ou des ulcères, elle se traduit obligatoirement par une élimination importante de bacilles.

Le foie lui aussi est souvent l'objet des atteintes de la tuberculose et les lésions d'hépatite tuberculeuse sont bien connues.

Cet ensemble qui constitue la voie hépatico-intestinale, est une des plus importantes sources de rejet de bacilles à l'extérieur, d'autant que l'élimination par cette voie n'exige pas obligatoirement des lésions de l'appareil digestif.

APPAREIL RESPIRATOIRE. — La fréquence des localisations sur cet appareil et d'autre part leur évolution même ont souvent fait comparer la tuberculose du chien à celle de l'homme.

En effet, en dehors des « néoformations d'apparen-

ce papillomateuse » de la trachée et du larynx que CADIOT a signalées, les localisations pulmonaires très fréquentes évoluent rapidement vers la dégénérescence caséuse, et se transforment en cavités purulentes, en cavernes, constituant ainsi de véritables nids de bacilles qui ont tôt fait de se créer une porte de sortie.

Le pus de ces cavernes est éliminé par la toux, le jetage, mais ce jetage étant léché continuellement par le chien, les bacilles sont encore éliminés le plus souvent par la voie intestinale.

Nous ne dirons qu'un mot de la localisation pleurale qui ne constitue pas une lésion ouverte; c'est pour signaler que conformément à ce qui se passe chez l'homme, la pleurésie du chien est presque toujours bacillaire. CADIOT donnait 82 % comme taux et le professeur LESBOUYRIES renchérit encore en disant 95 %.

APPAREIL GÉNITO-URINAIRE. — Si le testicule, la prostate, les urètres, la vessie sont rarement atteints, il n'en est pas de même du rein.

Cet organe d'élimination constitue un des principaux émonctoires de l'organisme et l'on conçoit aisément qu'il soit facilement atteint par la tuberculose.

L'examen bactériologique de l'urine, complété par des inoculations au cobaye, a permis à Cosson de déceler sur vingt sujets tuberculeux examinés, neuf cas de bacillurie. Tous furent autopsiés, deux ne présentèrent aucune lésion rénale macroscopique ni microscopique, les autres étaient porteurs de lésions de cet organe. Ceci nous indique clairement que nous avons là encore une importante voie d'excrétion.

TUBERCULOSE DE LA PEAU. — C'est l'exception et le professeur LESBOUYRIES pouvait écrire que presque tous les cas se rapportent à une plaie fistuleuse de la

région cervico-pharyngienne conduisant aux ganglions rétro-maxillaires, siège d'inflammations tuberculeuses suppurées. Donc on ne saurait parler ici de tuberculose cutanée.

Cependant, en 1929, LIÈGEOIS et BERTRAND rapportent deux observations de tuberculose cutanée. Les chiens étaient porteurs de lésions du coude, du jarret, de la surface antérieure du genou, lésions d'aspect lupique dont ces auteurs ont rattaché l'origine à une infection des plaies de décubitus par l'urine; l'autopsie de ces sujets les révéla porteurs de lésions rénales. Encore que ces auteurs n'aient trouvé que peu de bacilles dans les lésions cutanées, il est inutile d'insister sur le danger que de tels malades font courir à leur entourage.

Cette étude rapide nous a permis de toucher du doigt le danger que le chien tuberculeux présente pour l'homme et quoi qu'il n'existe, à notre connaissance, dans la littérature médicale, aucune observation de tuberculose d'origine canine, nous nous rallierons volontiers à l'opinion exprimée par le professeur PANISSET dans une conférence faite à la Faculté de Médecine de Paris : « L'homme peut contracter la tuberculose par cohabitation avec des animaux tuberculeux; c'est un mode exceptionnel... Il est bien possible cependant, que le chien, après avoir contracté une tuberculose d'origine humaine, soit capable d'infecter son maître. »

Si l'évolution toujours fatale de cette affection vient diminuer les chances de contamination, le danger n'en persiste pas moins et nous devons nous efforcer de lutter contre ce fléau.

L'extermination des malades, mesure draconienne, susciterait une protestation bien légitime des proprié-

taires, serait insuffisante, le chien restant toujours en contact avec l'homme, et surtout exigerait un procédé de diagnostic certain et facilement réalisable en pratique.

C'est pourquoi nous nous sommes attachés à étudier l'innocuité du B. C. G. qui sera, nous l'espérons, le premier pas vers la vaccination du chien contre la tuberculose.

CHAPITRE II

Le B. C. G. principe de la vaccination Cultures, conservation

En 1907, CALMETTE et GUÉRIN effectuant à l'Institut Pasteur de Paris, des expériences sur l'infection des jeunes bovins par les voies digestives, furent amenés aux conclusions suivantes : « 1° Chez les bovins jeunes ou adultes, et il en est probablement ainsi dans l'espèce humaine, la gravité des infections tuberculeuses dépend du nombre des microbes absorbés, de l'adaptation de ceux-ci à l'organisme infecté (autrement dit de leur virulence) et de la fréquence des contaminations.

« 2° Une seule infection même relativement massive peut guérir. La guérison définitive est manifestée par l'absence de réaction à la tuberculine, et toute infection guérie confère à l'organisme une résistance marquée à l'égard des nouvelles infections. »

Dès lors ces auteurs furent naturellement conduits à rechercher l'immunité antituberculeuse par l'introduction de bacilles tuberculeux vivants mais privés de virulence, dans les organes lymphatiques.

Après des essais peu concluants, tentés à partir de bacilles vivants d'origine équine, facilement tuberculigènes et très peu virulents pour le cobaye (souche H. VALLÉE) ils s'adressèrent sans obtenir plus de résultats, à des bacilles virulents qu'ils administrèrent

une ou deux fois à faible dose et en émulsion très fine, à l'aide d'une sonde œsophagienne.

Mais ils recoururent bientôt à un bacille d'origine bovine, auquel ils devaient s'arrêter. Dès le mois de décembre 1908, ils montrèrent que ce bacille cultive aisément sur pommes de terre cuites dans la bile de bœuf pure, glycerinée à 5 %, et maintenues à la température de 38° dans un excès de bile.

Bientôt, en novembre 1909, ces cultures sur pommes de terre biliées, en séries successives, leur permirent d'obtenir « une race de bacilles atténués qui perd peu à peu toute virulence pour le bœuf, puis pour le singe, puis pour les rongeurs de laboratoire ».

Desensemencements de ce bacille furent effectués tous les quinze jours, sur pomme de terre imprégnée de bile de bœuf glycerinée à 5 %. De cette façon, en 1920, après 230 passages, ils avaient obtenu leur souche B.C.G.

Ces bacilles ont gardé leurs caractères originels d'acido-résistance et de colorabilité par le procédé de ZIEHL. Ils se présentent cependant plus fins, plus grêles, plus longs et plus granuleux que les bacilles de la souche originelle cultivés sur les mêmes milieux. Les cultures de ces bacilles contiennent des éléments filtrables comme celles de bacilles virulents.

Dépourvue de toute virulence, cette souche obtenue en 1920 devait être le point de départ de toutes celles qui servirent à leurs expériences et sont utilisées depuis lors, soit pour la vaccination des jeunes enfants, soit pour celles des jeunes bovins.

Le principe de cette vaccination a été donné par CALMETTE dans son ouvrage « *La vaccination préventive contre la tuberculose* », paru en 1926, et dans lequel il s'exprime ainsi : « Nous croyons pouvoir affirmer que l'état de prémunition ou de résistance aux

infections bacillaires, est déterminé non par l'existence d'une ou de plusieurs lésions tuberculeuses latentes ou occultes, puisque celles-ci ne sont nullement nécessaires, mais par la symbiose de cellules lymphatiques avec quelques bacilles naturellement devenus ou artificiellement rendus offensifs ».

« La conséquence de cette notion est que pour provoquer l'état de prémunition, il faut, avant qu'aucune infection spontanée ait eu le temps d'intervenir, dès les premiers jours après la naissance, assurer l'imprégnation aussi prompte que possible de tous les organes lymphatiques du sujet par un assez grand nombre d'éléments bacillaires, susceptibles de se comporter comme un véritable vaccin, c'est-à-dire qui soient privés de virulence et aptes à engendrer des substances défensives (sensibilisatrices, agglutinines, etc...) toutes conditions auxquelles le B.C.G. répond aussi parfaitement qu'on peut le souhaiter. »

Cultures-conservation

La culture de ce bacille vaccin a été entretenue depuis 1920 sur pomme de terre plus bouillon glycé-
riné ordinaire ou sur le milieu synthétique de SAUTON. Toutefois il a toujours été pris soin de reporter la semence deux fois de suite sur pomme de terre biliée, après chaque série de dix cultures successives sur pomme de terre glycé-
rinée ordinaire ou sur milieu de SAUTON, dans le but de maintenir la stabilité de la race et de conserver ses caractères essentiels d'avirulence.

La culture sur pomme de terre biliée offre un aspect particulier. Analogue à une culture de morve, elle présente au bout d'une dizaine de jours à peine « des

amas crémeux, luisants, de couleur brun verdâtre, qui s'épaississent jusqu'aux environs du vingt-cinquième jour, puis cessent de croître ».

Sur pomme de terre plus bouillon de veau glycé-
riné ordinaire à $\text{pH} = 7,2$, la culture revêt l'aspect de
masses cérébroïdes jaunâtres, granuleuses, fragmen-
tées et humides, tout comme celles de bacilles tuber-
culeux normaux.

L'ensemencement sur le milieu synthétique de SAU-
TON, se fait obligatoirement à partir d'une culture sur
pomme de terre plus bouillon glycé-
riné, car la semen-
ce provenant d'une culture sur pomme de terre plus
bile est incapable de flotter et de pousser en voile.
L'aspect de la culture est identique à celui des cultures
de bacille tuberculeux bovin sur bouillon glycé-
riné ordinaire. Cependant CALMETTE fait remarquer que
« la couche grumeleuse est plus abondante, plus blan-
che, plus épaisse, plus étalée en hauteur sur les parois
du vase. Le développement est plus rapide aussi. Il est
à son maximum aux environs du vingt-cinquième
jour ».

Pour nos recherches, nous avons utilisé une souche
de B. C. G. cultivée sur pomme de terre plus bouillon
de veau glycé-
riné que M. C. GUÉRIN mit gracieuse-
ment à notre disposition.

Sur ses conseils nous avons conservé cette souche en
la cultivant sur pomme de terre plus eau glycérinée
simplement. A cet effet, des fragments de pomme de
terre, taillés à l'emporte-pièce, étaient, après une im-
mersion de quelques heures dans de l'eau contenant
dix grammes de carbonate de soude par litre, essorés
et introduits dans des tubes étranglés de Roux, préa-
lablement remplis jusqu'à l'étranglement avec la solu-
tion suivante :

Glycérine pure..... 5 grammes

Eau distillée..... 100 grammes

dont le ph. était ajusté à 7,2.

Ces tubes fermés avec un tampon de coton étaient stérilisés à l'autoclave pendant 30 minutes à 100° et 15 minutes à 120°. Ils étaient ensuite soigneusement capuchonnés et maintenus pendant trois jours à l'étuve pour s'assurer de leur pureté.

Ce délai écoulé, nous ensemencions la pomme de terre à l'aide d'une spatule de nickel, en ayant soin de bien écraser la semence sur toute la surface de la pomme de terre. Cette culture laissée à l'étuve à 37° pendant trois semaines, servait alors à la préparation de nos émulsions, selon la technique que nous étudierons plus loin.

Mais auparavant il nous faut faire une brève étude de l'historique de la virulence du B.C.G.

CHAPITRE III

Historique de la virulence du B. C. G.

Il ne saurait être question de faire rentrer dans le cadre de ce travail un historique complet de la virulence du B.C.G. Nous nous bornerons après avoir rapporté les premières expériences de CALMETTE et GUÉRIN sur la virulence de leur bacille vaccin, à étudier les grandes attaques qui ont été portées contre lui et à passer en revue les différents moyens mis en œuvre, particulièrement en ces dernières années, pour essayer de lui faire récupérer ses propriétés pathogènes.

CALMETTE ayant constaté, en 1908, la possibilité de cultiver le bacille tuberculeux d'origine bovine sur pommes de terre cuites dans la bile de bœuf pure glycérinée à 5 %, et maintenues à 38° dans un excès de bile, rapporta en 1909 à l'Académie des Sciences les premières constatations faites au sujet de la virulence du B.C.G.

Il avait remarqué que, reporté sur pomme de terre glycérinée ordinaire, ce bacille reprend les caractères de la culture normale tout en gardant le degré d'atténuation qu'il avait acquis sur la culture biliée. Ceci l'amena à étudier les variations de la virulence avec les différents passages effectués.

Au quinzième passage sur bile de bœuf, le bacille était encore virulent *pour le cheval* : « deux chevaux vigoureux, âgés de quinze et seize ans, reçurent dans

la veine jugulaire chacun 5 milligrammes de bacilles biliés du quinzième passage. Ils succombèrent respectivement le quarantième et le soixantième jour avec des lésions énormes de granulie pulmonaire. »

Chez le cobaye, ce bacille du quinzième passage, inoculé dans le péritoine à la dose de un milligramme, détermina une tuberculose viscérale compatible pendant plus de cinq mois avec une bonne santé. Une inoculation identique sous la peau de la cuisse provoqua tardivement du quarantième au cinquantième jour un léger gonflement du ganglion inguinal correspondant, l'animal resta bien portant.

Alors que ce bacille était primitivement assez virulent pour que l'injection intra-veineuse de 3 milligrammes déterminât chez les veaux âgés de six mois une granulie aiguë mortelle en quatre à six semaines, après le deuxième passage sur pomme de terre biliée, l'inoculation intra-veineuse de 5 milligrammes provoqua *chez le bœuf* « une infection générale d'allure typhique, sans lésion folliculaire, et non mortelle ».

Au dixième passage une dose de 50 milligrammes fut nécessaire pour produire les mêmes effets.

Au quinzième passage une dose de 100 milligrammes ne produisit pas encore constamment une infection mortelle.

En 1910, CALMETTE pouvait dire: « A l'heure actuelle nous avons obtenu au vingt-huitième passage un bacille bovin peu virulent pour les petits animaux et remarquablement toléré par les jeunes bovidés. A forte dose, 100 milligrammes en intra-veineuse il produit une maladie d'allure typhique, dans laquelle au bout d'un mois la fièvre disparaît et les animaux reprennent l'apparence de la santé. D'ailleurs à dose plus modérée, 25 milligrammes en intra-veineuse, une culture

du vingtième passage seulement détermine une légère atteinte de typho-bacillose. »

Par la même occasion, il constata que ces animaux ont acquis une grande résistance aux inoculations d'épreuve et dès lors il essaya la vaccination.

Chez le bœuf des expériences de vaccination furent effectuées de 1912 à 1915 par injections intra-veineuses et de 1919 à 1924 par inoculations sous-cutanées.

Après avoir obtenu la souche B.C.G. (230° passages), CALMETTE entreprit d'en étudier la virulence avec ses collaborateurs.

De 1921 à 1924 il travailla avec BOQUET et NÈGRE sur les rongeurs de laboratoire, cobaye et lapin, qui sont très sensibles à la tuberculose, et voici le résultat de leurs recherches : *chez le cobaye*, après une injection sous-cutanée de 3 à 10 milligrammes, « l'infection ne se généralisa pas et l'animal resta en parfaite santé ».

« L'inoculation par la même voie de doses mêmes énormes, jusqu'à un gramme de B.C.G., fut parfaitement inoffensive en ce sens qu'elle se montra incapable de provoquer une infection tuberculeuse mortelle »; et si par injections intra-péritonéales ils ont provoqué un abcès et la mort, le pus réinoculé sous la peau de cobayes sains ne fut pas capable de leur transmettre la tuberculose.

Chez le lapin « l'injection sous-cutanée de petites doses, 1 à 5 milligrammes, fut aussi bien tolérée que par le cobaye ». Mais 20 milligrammes en injection intra-veineuse produisirent sur le poumon, la rate, le foie, des petits follicules guérissant en cinq à six mois et qui, réinoculés au cobaye, ne déclenchèrent la production d'aucune lésion.

Au moment où ces expériences étaient effectuées, la vaccination se pratiquait déjà chez le bœuf, comme

nous l'avons indiqué plus haut, depuis 1919 surtout et chez l'enfant depuis 1921.

Ces remarquables travaux et les résultats surprenants obtenus dès les premières années de vaccination n'empêchèrent pas l'opinion médicale de toujours craindre un retour à la virulence du B.C.G.

Chacun s'efforça de lui faire récupérer tout ou partie de ses qualités pathogènes par une série d'artifices de laboratoire, de passages en série sur divers animaux, par l'influences de germes étrangers, en faisant varier la voie et le mode d'inoculation, etc...

Pour la même raison on a essayé de voir dans les accidents de vaccination qui ne manquent jamais de se produire, le fait d'une récupération de la virulence.

Nous allons passer en revue ces différents moyens et les accidents survenus dans l'utilisation du B.C.G.

VIRULENCE DU B.C.G. CHEZ LE COBAYE

A la suite des expériences de CALMETTE que nous avons rapportées plus haut, de nombreux auteurs et dans tous les pays ont étudié la virulence du B.C.G. chez le cobaye, pour se faire une opinion sur ce bacille vaccin.

Un certain nombre d'entre eux ont cru pouvoir affirmer que, en passant chez le cobaye, le B.C.G. récupère une certaine virulence. C'est ainsi que nous rencontrons dans ce groupe les noms de : CHIARI, NOBEL, SOLE, MAC INTOCH et KONST, HUTYRA, S.-A. PÉTROFF, UHLENHUTH et SEIFFERT.

KORCHOUN déclare que la souche B.C.G. peut produire des lésions tuberculeuses spécifiques chez les cobayes.

E.-A. WATSON et ses collaborateurs estiment égale-

ment que le B.C.G. n'a point perdu sa virulence et qu'il est capable de provoquer une tuberculose mortelle des animaux dans 9 % des cas, surtout s'il s'agit des cobayes.

Certains de ces auteurs ont rapporté que des cobayes, dans des conditions très exceptionnelles, auraient été trouvés porteurs de lésions tuberculeuses évolutives à la suite d'inoculation de fortes doses de B.C.G., particulièrement d'éléments bacillaires du type S. obtenus par dissociation de la souche originelle.

A la suite de ces attaques, divers expérimentateurs ont tenté de vérifier l'origine des lésions tuberculeuses ainsi obtenues. A. BOQUET et NÈGRE, en 1930, répondent à l'hypothèse d'après laquelle le B.C.G. aurait perdu une partie de son activité au cours de ces dernières années. Ils examinent des cultures qui ont subi l'une 300 passages, l'autre 337, ainsi que quatre cultures provenant de laboratoires étrangers et qui avaient été reportées jusqu'à 418 fois sur pomme de terre biliée.

Des inoculations intra-péritonéales faites au cobaye ont permis de conclure qu'il n'y a aucune variation dans les caractères biologiques des souches de B.C.G. : « Depuis les expériences initiales de CALMETTE et de ses collaborateurs, écrivent-ils, les caractères du B.C.G. ne se sont modifiés ni dans le sens d'une récupération partielle de la virulence, ni dans le sens d'une atténuation plus marquée ».

Concurremment des expériences ont été effectuées par CALMETTE dans des conditions offrant toutes garanties contre l'infection spontanée, en partant de 13 souches différentes de B.C.G. et d'une souche N° 310 cultivée sur pomme de terre glycinée sans bile, pendant 69 passages sans interruption. Ni les unes ni l'autre injectées sous la peau du cobaye, aux doses de

600 à 700 milligrammes n'ont produit de lésions tuberculeuses évolutives. Elles ne renferment donc aucun élément virulent et leurs caractères sont restés les mêmes que ceux du B.C.G. employé à la préparation du vaccin.

En 1933, B.-M. GOURVITCH et E.-I. KOSMINSKAÏA, frappés par ces divergences au sujet de la virulence du B.C.G., ont pratiqué des recherches sur le cobaye ; cela leur a permis d'affirmer « que le B.C.G. introduit chez des cobayes à des doses diverses (quelquefois même massives) se comporte comme une culture à virulence faible, qui, sans produire de tuberculose, provoque cependant l'apparition de faibles lésions tuberculeuses qui disparaissent plus tard ».

VIRULENCE DU B.C.G. CHEZ LE BOEUF

A la suite des vaccinations poursuivies depuis 1921 dans le domaine de M. Legrand, MM. G. GUÉRIN, A. RICHART et M. BOISSIÈRE pouvaient conclure en 1927 : « l'innocuité du B.C.G. est surabondamment démontrée par ce fait que des animaux naissants, vaccinés en 1921, puis revaccinés au cours de trois et quatre années consécutives, ont été trouvés à l'abatage indemnes de toute lésion tuberculeuse. Nous sommes autorisés à en conclure que le B.C.G. est incapable, même dans l'organisme d'origine, celui du bœuf, de redevenir virulent. »

La preuve de cette innocuité est d'ailleurs fournie d'une façon manifeste par la vaste expérience entreprise depuis 1926 par les vétérinaires en différents pays : Autriche, Pays-Bas, Italie, Brésil, Canada.

Cependant certains auteurs restent réservés. Le professeur LIGNIÈRES écrivait en 1927 : l'atténuation du B.C.G. est fixe, ni les passages par le cobaye, ni par

le veau, n'ont pu la modifier pour lui permettre de faire des lésions de tuberculose.

Malgré la fixité remarquable de l'atténuation du B. C.G. il est prudent de continuer à l'entretenir sur milieux biliés, et ce serait une erreur de le considérer dans tous les cas comme absolument inoffensif.

Le professeur G. MOUSSU, qui partage cette opinion, considère « que la fixité morphologique et physiologique du B.C.G., est un fait définitivement acquis pour des conditions déterminées de culture ». « Mais pour lui, il importe de savoir si le B.C.G. vaccin vivant conservera dans les organismes vivants réceptifs pour la tuberculose ses seules qualités primitives ou s'il les modifiera ou s'il en acquerra d'autres, si en d'autres termes il ne récupérera pas de la virulence. »

En 1931 il rapporte la découverte de bacilles tuberculeux pathogènes pour le cobaye, dans le nodule vaccinal d'un bovidé de dix-huit mois vacciné au B.C.G. A ce sujet il écrit : « a) Une vaccination par le B.C.G. a été effectuée le 10 octobre 1929 sur une génisse âgée de dix jours, née de mère non tuberculeuse dans une étable épurée antérieurement par la tuberculine. Cette génisse a été élevée au seau. Elle n'a jamais tété. Onze mois après la vaccination une petite lésion évolutive devant aboutir à la formation d'un abcès froid est apparue au point d'inoculation du vaccin. b) L'inoculation massive d'une émulsion du contenu du petit abcès froid extirpé, a provoqué chez le cobaye une affection tout à fait superposable à celle provoquée par les inoculations d'émulsions de lésions de tuberculose bovine naturelle. »

Considérant comme très vraisemblable la récupération de la virulence, il admet cependant d'autres possibilités : l'infection pré-natale, l'infection entre la vaccination et l'établissement de l'immunité. Enfin

l'inoculation, par l'aiguille, de bacilles virulents se trouvant sur la peau mal désinfectée, lors de l'injection vaccinale.

MM. CALMETTE et GUÉRIN, en octobre 1931, ont répondu à la publication ci-dessus du professeur G. MOUSSU, en réfutant successivement tous les arguments sur lesquels celui-ci base sa conclusion.

Ils écrivent : 1° *Etat sanitaire de l'étable*. M. le docteur-vétérinaire ARKWRIGHT, de Villecresnes, déclare que, de 1919 à 1927 il a procédé dans cette étable, à diverses reprises, à des intradermo-tuberculinations. Chaque fois certains animaux présentèrent une réaction positive. Depuis 1927 aucune tuberculination n'a été effectuée. Le 6 juillet 1931, tuberculination sous-cutanée : quatre animaux sur neuf réagissent positivement, soit 45 %. 2° *Etat sanitaire de la mère de la génisse*. Le propriétaire déclare que, non seulement il est incapable de désigner parmi ses animaux la mère de la génisse, mais qu'il ne peut affirmer si elle fait encore partie de son effectif; 3° *Alimentation de la génisse*. Issue de cette mère énigmatique, la génisse n'a pas été isolée. Elle a été élevée avec du lait cru, mélange des laits de l'étable. 4° *Situation de la lésion tuberculeuse*. M. ARKWRIGHT dit qu'elle se trouvait à plus de 20 centimètres du lieu de l'injection vaccinale. Et M. MOUSSU l'a dit lui-même « profondément attachée aux muscles sous-jacents ». Ce qui n'aurait pu se produire si elle s'était développée dans le pli cutané du fanon au lieu d'inoculation du vaccin.

MM. CALMETTE et GUÉRIN poursuivent en concluant que, quel que soit le mode de production de cette lésion, il leur est permis de répéter ce qu'un des leurs disait au Congrès vétérinaire de Londres, en 1930, à savoir : « Que pas un seul des quelques centaines de savants et de praticiens qui ont utilisé le B.C.G. chez

les bovins, n'a eu à observer et signaler un seul cas où l'inoculation ait été le point de départ de lésions tuberculeuses pouvant laisser croire à une récupération de virulence du vaccin. »

Plus récemment, M. VAN HEELSBERGEN, chef de la Section vétérinaire du Laboratoire pour la santé publique à Utrecht, rapportant un fait analogue à celui de M. G. MOUSSU, écrit à ce sujet : « Cette observation se superpose à celle de MOUSSU, elles ne constituent ni l'une ni l'autre une preuve de la récupération de la virulence du B.C.G. Les données sur lesquelles MOUSSU base son argumentation sont assez faibles. Il est plus probable que dans les deux cas, des bacilles issus de lésions tuberculeuses vraies sont arrivés dans le nodule vaccinal, ainsi que cela a été démontré expérimentalement par ASCOLI. »

Au mois de février 1931, le professeur CALMETTE, répondant aux craintes formulées par M. VAQUEZ, au sujet du nodule vaccinal, écrit : « L'injection du vaccin B.C.G. chez le veau provoque le plus souvent au point d'inoculation un engorgement faisant place à une induration fibreuse dans laquelle au bout d'un an on peut retrouver des bacilles intacts, inoffensifs pour le cobaye. Leur virulence (des bacilles B.C.G.) ne s'est pas le moins accrus, bien qu'ils soient demeurés si longtemps dans l'organisme bovin qui, puisque le B.C.G. est d'origine bovine, eut dû le mieux convenir à sa réadaptation et à son retour à la virulence. »

Rapportons maintenant les conclusions de B.M. GOURVITCH et E.-I. KOSMINSKAÏA, à propos d'une expérience portant sur 34 veaux, terminée en 1933. « Les expériences sur des veaux immunisés par une dose normale de B.C.G., écrivent-ils, montrent que le B.C.G. agit comme une culture de faible virulence, produisant un foyer local et une réaction des ganglions

lymphatiques, sans provoquer d'altération tuberculeuse spécifique. »

Citons enfin ce que M. G. GUÉRIN rapportait tout dernièrement dans le recueil d'Alfort : « Il n'est peut-être pas inutile de rappeler qu'en janvier 1932, en France seulement, 203 vétérinaires ayant vacciné ensemble un total de 9.244 bovidés ont participé à une enquête. A cette question qui leur était posée : Avez-vous observé des accidents consécutifs à la vaccination ? A l'unanimité les 203 ont répondu : Non, jamais l'inoculation vaccinale n'a été le point de départ de lésions évolutives. »

Il nous semble que, en laissant de côté les expériences que nous avons rapportées ci-dessus, ce dernier argument est à lui seul capable de faire admettre la non-récupération de virulence du B.C.G. chez le bœuf, tout au moins jusqu'à présent.

VIRULENCE DU B.C.G. CHEZ DIVERSES ESPÈCES ANIMALES

En 1923, CALMETTE, malgré les résultats qu'il avait obtenus chez certains animaux et quelques jeunes enfants avec son B.C.G. entreprit sur des singes des expériences destinées à montrer l'innocuité de son vaccin chez cet animal et à faire un nouvel essai de prémunition.

Le singe est un être particulièrement sensible à la tuberculose et CALMETTE voyait dans cette expérience une garantie de plus avant d'étendre les essais de vaccination préventive chez l'enfant. Il publie en 1925 les résultats de cette expérience effectuée en collaboration avec R. WILBERT. De ces résultats une conclusion se dégage : « L'inoculation et l'ingestion de doses massives de B.C.G., jusqu'à 100 milligrammes, se

montrent absolument inoffensives pour les chimpanzés et les pithéciens. »

Tout dernièrement, en juin 1933, J.-M. LEVITAN et D.-D. LOKHOFF, étudiant la virulence du B.C.G. chez ces mêmes animaux, ont constaté qu'il est pour eux tout à fait inoffensif, même lorsque les inoculations sont répétées sur le même animal jusqu'à treize fois. Ni ces inoculations répétées, ni les maladies intercurrentes, ni les mauvaises conditions d'alimentation imposées aux animaux n'ont augmenté la virulence du bacille vaccin.

Plus récemment encore des expériences ont été entreprises par B.-M. GOURVITCH et E.-I. KOSMINSKAÏA, pour étudier les propriétés virulentes du B.C.G. chez des animaux très peu sensibles à la tuberculose, des agneaux. Ils ont publié les résultats de cette expérience de laquelle ils concluent : « Que le B.C.G. est une culture à virulence très faible pour ces animaux ».

VIRULENCE DU B.C.G. CHEZ L'HOMME

Dès le mois de juillet 1924, l'innocuité de la vaccination préventive de l'enfant par le B.C.G. paraissant certaine, CALMETTE décide d'en généraliser l'emploi. Depuis lors cette méthode semble donner d'excellents résultats.

Cependant, en fin 1929 et début 1930, une série d'accidents se produisent à Lubeck, accidents qui ont longtemps jeté un discrédit sur la méthode et ont ému l'opinion médicale pendant assez longtemps.

Le 29 juillet 1929, une souche de B.C.G. est envoyée par les services de l'Institut Pasteur de Paris au médecin-chef professeur DEYCKE de l'hôpital de Lubeck. Cette même souche servit à prémunir des enfants à

Paris, à Riga et au Mexique sans que l'on eut à déplorer le moindre accident.

Des vaccinations de nouveau-nés ont été effectuées à Lubeck avec cette souche, à partir de la fin de décembre 1929 jusqu'au 15 avril 1930. A la suite de ces vaccinations qui ont porté sur 252 nouveau-nés, on a eu à relater 71 décès, et un certain nombre d'enfants sont demeurés chétifs et malingres. Dès ce moment le gouvernement du Reich a désigné deux experts chargés d'examiner cette affaire : le professeur LUDWIG LANGE, du Laboratoire du Conseil supérieur de la santé, et le professeur BRUNO LANGE, de l'Institut Robert Koch de Berlin. Dès le 14 juin 1931, le professeur LUDWIG LANGE a publié les indications suivantes : « La souche B.C.G. que l'Institut Pasteur de Paris avait envoyée à l'hôpital de Lubeck le 29 juillet 1929 a été réensemencée environ toutes les quatre semaines, dans le laboratoire de M. DEYCKE, d'abord sur pomme de terre biliée et parallèlement sur le milieu à l'œuf de Hohn, en partie aussi sur le milieu à l'œuf hématine, plus tard sur milieu à l'œuf seulement. Ces réensemencements ont été faits par une infirmière qui travaillait depuis dix-sept ans au Laboratoire de M. DEYCKE.

Les émulsions vaccinales ont été préparées avec la culture sur milieu à l'œuf, d'abord par M. DEYCKE, puis plus tard par l'infirmière. On n'a donc pas employé les milieux recommandés par CALMETTE.

Les réensemencements et la préparation du vaccin ne se faisaient pas dans un local spécial. On travaillait peu au laboratoire avec des souches de bacilles humains virulents jusqu'aux environs de septembre 1929, car toutes les souches avaient été tuées par un accident de surchauffage à 80° de l'étuve. En septembre 1929, M. DEYCKE a fait venir une souche humaine virulente

de l'Institut de Kiel. Les cultures B.C.G. se trouvaient dans une étuve placée dans un petit local A. La souche humaine était gardée dans une autre étuve se trouvant dans un local plus grand B. La préparation des émulsions de B.C.G. se faisait dans le même local B dans lequel on préparait également les « Partigènes de DEYCKE-MÜCH ».

Après les premiers accidents, les experts ne trouvèrent plus dans ce laboratoire que deux souches, une première étiquetée B.C.G.-143-DEYCKE, dans laquelle le professeur B. LANGE découvrit des bacilles virulents.

La seconde (souche Kiel), BRUNO LANGE prétend que c'était la même qu'une souche H. 29 provenant de son laboratoire à l'Institut R. Koch et envoyée précédemment par lui-même à Kiel. Cette souche avait été obtenue par le professeur OPITZ en partant d'une coxalgie tuberculeuse.

Par ailleurs toutes les autres souches avaient été détruites dans ce laboratoire de M. DEYCKE. Après chaque décès, l'autopsie pratiquée permit de constater, après culture, que les germes en cause étaient humains et virulents.

Dès lors deux hypothèses se firent jour : Ou bien une récupération de virulence de la part du B.C.G., ou bien une erreur de laboratoire.

La première hypothèse fut aisément éliminée par les experts et tous deux se prononcèrent pour une erreur de laboratoire, ainsi que l'indiquent les conclusions du rapport du professeur B. LANGE, en tous points concordantes avec celles de L. LANGE.

« 1° La catastrophe de Lubeck, écrit L. LANGE, ne peut pas être attribuée à un retour à la virulence du B.C.G.; 2° Il est amplement démontré que les accidents de Lubeck sont dûs à une erreur commise au laboratoire pendant la préparation du vaccin. »

Ces conclusions corroborent celles qui ont été prises à l'unanimité par la Commission des bactériologistes de la Conférence spéciale organisée par la S.D. N. ainsi que celles de l'Académie de Médecine à la séance du 7 juillet 1931.

Dès lors et à la suite des vaccinations innombrables effectuées depuis 1924 chez l'enfant, nous sommes en droit d'admettre, que le B.C.G. est dépourvu de virulence pour l'enfant.

INFLUENCE DES MILIEUX DE CULTURE

Dans tous les pays un certain nombre d'auteurs se sont attachés à faire récupérer au B.C.G. tout ou partie de sa virulence en le cultivant sur des milieux très divers.

En 1931, A. SAENZ échoue dans un essai de récupération de virulence entrepris en effectuant des réensemencements successifs sur milieux à l'œuf de Hohn, avec traitements intermédiaires par l'acide sulfurique dilué à 5 % selon LOEWENSTEIN-HOHN.

C'est une culture de B.C.G. sur ce même milieu à l'œuf de Hohn qui, mélangée à de l'acide lactique dilué à 1 % a permis à H. MÜCH, lors d'une conférence tenue à Hambourg en août 1930, de prétendre que ce bacille vaccinal détermine chez certains animaux une tuberculose extrêmement grave de l'épiploon et que les cobayes auxquels on inocule ces lésions broyées et émulsionnées dans une dilution d'acide lactique à 1 % meurent cachectiques.

Cette affirmation de H. MÜCH a été détruite par les expériences de T. DE SANCTIS MONALDI en 1931, à la suite desquelles il a pu dire que, non seulement l'acide lactique n'augmente pas la virulence du B.C.G. ino-

culé par voie péritonéale, mais qu'il détermine des lésions moins accusées que le B.C.G. seul.

Dans une publication de *The Lancet*, en 1931, G. DREYER et R. VOLLUM attirent l'attention sur la propriété que possède le B.C.G. de récupérer sa virulence pour le cobaye et le lapin en le cultivant dans la profondeur du bouillon de veau à ph. 6,8, ce résultat étant obtenu avec deux souches différentes et dès le deuxième passage. Par contre A. SAENZ, en 1931, suivant strictement la technique indiquée par ces auteurs, n'a pu obtenir des résultats analogues. Le B.C.G. est toujours resté inoffensif pour le cobaye et le lapin dans les cultures successives en profondeur.

D'ailleurs divers auteurs William H. PARK, à New-York, L. LANGE et BRUNO LANGE, à Berlin, ALDER-SHOFF, à Utrecht, répétant cette expérience n'ont pas été plus heureux que SAENZ, démontrant bien par là que les résultats de DREYER et VOLLUM étaient faussés par quelque cause d'erreur.

Plus récemment encore, en 1933, les expériences de F. GERLACH, SILVIO SEGRE et J. BROSCHE ont encore confirmé cette opinion.

En 1930, au premier Congrès international de microbiologie, Sir ALMOTH E. WRIGHT a décrit les aspects en ruban hélicoïdal de certaines colonies de bacilles de Koch cultivés à l'étuve dans un caillot de sang total de cobaye, en pipette scellée.

En 1931, T. DE SANCTIS MONALDI examine le B.C.G. dans les mêmes conditions, et constate qu'il garde ses caractères morphologiques normaux, et n'acquiert aucune virulence pour le cobaye.

Un peu plus tard, ce même auteur cultive le B.C.G. dans le sang total de lapin, sans modifier sa virulence, et cependant dans ce milieu les bacilles sont devenus plus grêles et plus courts.

SASANO et MELDAR ont cru rendre le B.C.G. virulent en le cultivant dans le milieu de SAUTON auquel ils additionnent 10 % de sérum frais de lapin.

BOQUET, se servant de trois souches différentes, opérant selon leurs techniques et inoculant des doses dix et quinze fois supérieures aux leurs, n'a jamais pu tuberculiser un lapin ni un cobaye.

Il en a été de même pour L. MISHULOW, W.-H. PARK et M. MELDAM, aux Etats-Unis, ADLERSHOFF, en Hollande, L. LANGE et B. LANGE, en Allemagne, F. GERLACH, SILVIO SEGRE et J. BROSCHE, en Autriche.

En 1931, J. VALTIS et T. DE SANCTIS MONALDI étudiant les modifications du ph. des cultures de B.C.G., en milieu synthétique de SAUTON, ont constaté, qu'il se comporte comme celui des cultures de bacilles virulents de type bovin.

T. DE SANCTIS MONALDI rapporte en 1932, au deuxième Congrès international de pathologie comparée, que la culture de B.C.G. est difficile et très pauvre sur pomme de terre glycinée légèrement acide (ph. de 5,8 à 6,2), ou fortement alcaline (ph. de 8,2 à 8,4); mais lorsque la culture se développe, les caractères de virulence ne sont pas modifiés.

La stabilité des caractères biologiques du B.C.G. a été étudiée en 1932 par A. SAENZ et COSTIL. Le B.C.G. cultivé pendant quatre à sept passages sur le milieu de PETRAGNANI au vert Malachite, dans lequel on substitue à la glycérine une solution chloroformique de cire vierge d'abeille, lui fait récupérer ses caractères culturels primitifs, sans pour cela lui faire reprendre sa virulence, ainsi que certains en avaient émis l'hypothèse.

De même, la culture du B.C.G. sur des filtrats tuberculeux, réalisée par J. VALTIS et F. VAN DEINSE, n'en modifie pas la stabilité. Cette symbiose du B.C.

G. et de l'ultravirus, soit *in vitro*, soit dans l'organisme du cobaye, n'a nullement contribué à exalter sa virulence.

INFLUENCE DE GERMES ÉTRANGERS

Certains ont émis l'hypothèse que, sous l'influence d'une infection concomitante, le B.C.G. pourrait devenir susceptible de récupérer sa virulence.

A. SAENZ, en 1931, a inoculé du B.C.G. dans le péritoine de cobayes infectés au préalable par du bacille de Preiz-Nocard, ne déterminant pas cette inoculation que de faibles lésions sur l'épiploon, la rate, le foie; ces lésions réinoculées dans le péritoine du cobaye n'ont permis de trouver après le troisième passage que l'infection due au Preiz-Nocard.

En 1930, J. MOREAU et A. TORTORELLA, effectuant des expériences pour étudier la virulence du B.C.G. chez des cobayes porteurs de streptococcus Cavioe, ont constaté qu'à petites doses, ce bacille détermine chez le cobaye une infection chronique et que sur ces cobayes ainsi infectés, l'inoculation du B.C.G. ne détermine contrairement aux affirmations d'HORMAE-CHE et MACKINNON, aucune récupération de virulence pour celui-ci.

En 1931, SAENZ a établi que les lésions locales déterminées par le B.C.G. chez des sujets porteurs d'une infection par S. Cavioe, évoluent vers la guérison aussi vite que les lésions produites par le B.C.G. sur des cobayes normaux.

De même, L. NÈGRE et J. VALTIS ont montré en 1932, que des cobayes inoculés avec des bacilles virulents pouvaient ingérer impunément des doses de 4 à 5 centigrammes de B.C.G., alors que comme l'on

sait, ces cobayes meurent après une inoculation de tuberculine ou de bacilles morts.

Ces mêmes auteurs constatent la même année que les injections répétées d'extrait acétonique de bacilles de Koch virulents, pratiquées chez des cobayes ayant reçu préalablement sous la peau des filtrats de B.C.G., font apparaître dans les ganglions des formes bacillaires dépourvues de toute propriété pathogène.

Les effets conjugués de l'ultravirus tuberculeux et du B.C.G. chez le cobaye, étudiés en 1929 par J. VALTIS et A. SAENZ, repris en 1932 par F. VAN DEINSE, ont prouvé que les filtrats de cultures jeunes de bacilles tuberculeux virulents n'exercent aucune influence activante sur la virulence du B.C.G.

Enfin, J. BEERENS, eu 1933, effectue des passages successifs de cobaye à cobaye traités par des injections de bacilles tuberculeux tués par la chaleur, sans déterminer aucune reprise de virulence du B.C.G.

Toutes ces expériences confirment les faits accumulés par NELIS, de Bruxelles, par TZEKNOWITZER, de Kharkoff, par MOREAU, de Montevideo, prouvant que l'éclosion d'une maladie intercurrente ne provoque aucune exaltation des propriétés pathogènes du B.C.G.

INFLUENCE DE LA VOIE ET DU MODE D'INOCULATION INJECTIONS RÉPÉTÉES

O. KIRCHNER a cru remarquer une récupération de virulence du B.C.G. inoculé sur la cornée du cobaye. Cette expérience a été reprise chez le lapin par T. DE SANCTIS MONALDI et U. BASSI, en 1932. Utilisant la technique d'ARMANI (scarifications perpendiculaires les unes aux autres), ces auteurs n'ont jamais obtenu que des lésions bénignes, régressant spontanément et guérissant toujours.

D. MICHAÏL et P. VANCERA, ont rapporté des conclusions analogues : au point d'inoculation du B.C.G., il se produit une kératite très légère, très limitée et guérissant toujours.

Les injections répétées et les passages successifs ont également été utilisés pour exalter la virulence du B.C.G. Récemment encore J. BEERENS rapportant les résultats de ses expériences conclue : « 1° Les injections sous-cutanées répétées tous les cinq jours de un milligramme de B.C.G., ou de 0 mg. 01 tous les deux jours, sont inoffensives pour le cobaye; 2° Six passages successifs de B.C.G. de cobaye à cobaye, malgré les inoculations répétées de ce germe à chacun des animaux, n'ont pas réussi à déterminer chez eux l'évolution d'une tuberculose progressive. »

INFLUENCE DE LA MALADIE, DE LA CARENCE, DES RAYONS X.

MAURIAD et AUBERTIN, en 1930, ont étudié la virulence du B.C.G. chez des animaux rendus expérimentalement malades; leurs expériences ont permis les conclusions suivantes : 1° Même chez les animaux intoxiqués par le vin, la thyroxine, le nitrate d'urane, l'huile phosphorée, même chez les animaux dépancréatisés, le B.C.G. reste un microbe atténué et ne se généralise jamais; 2° Le B.C.G. n'exerce pas d'action aggravante sur la marche de ces intoxications, réserve faite cependant pour les intoxications par le nitrate d'urane, qui semblent plus rapidement mortelles chez des animaux inoculés avec le B.C.G.; 3° Chez les animaux qu'il immunise de façon réelle, la solidité de l'immunité n'est pas ébranlée par l'évolution parallèle d'intoxications favorables au développement de la tuberculose.

Certains auteurs, MOURIQUAND et BERTOYE en 1929,

D.-I. STOIANOV en 1932, ont étudié la stabilité du B.C.G. sur des animaux carencés et ont pu écrire que le B.C.G. reste avirulent, même après plusieurs passages dans l'organisme de cobayes soumis à un régime déficient en vitamines.

L'influence des rayons X a été également mise en jeu par M. NASTA, I. JOVIN et M. BLECKMANN, et ces auteurs concluent que le B.C.G. inoculé sous la forme de culture totale ou filtrée, ne détermine chez le cobaye exposé à l'action des rayons X, aucun des accidents toxiques qui s'observent constamment à la suite de l'irradiation des animaux inoculés avec les éléments filtrables de bacilles tuberculeux pathogènes.

*
* *

Après ce rapide exposé de l'historique de la virulence du B.C.G., il semble que nous sommes en droit de conclure que, jusqu'à présent, ce bacille vaccin n'a pas plus récupéré ses qualités pathogènes chez les êtres vivants, qu'en culture, malgré tous les artifices employés dans ce but depuis sa découverte.

CHAPITRE IV

Etude de la virulence du B. C. G. chez le chien

SUJETS UTILISÉS. — Nous nous sommes servis pour cette étude, de chiens abandonnés, capturés dans la rue, et mis à notre disposition par les services de la Préfecture de Police.

Ces animaux du format le plus divers, depuis un fox de petit modèle pesant 10 kilos à peine, jusqu'à une chienne bergère de 25 kilos, n'appartenaient pour la plupart à aucune race bien définie. Nous nous sommes ingéniés à les choisir de tous les âges. Si nous en avons trouvé de très vieux, telle une chienne dont la bouche était complètement dépourvue d'incisives, mais dont le facies nous a permis de lui donner une douzaine d'années, nous n'avons pu utiliser des sujets ayant moins de dix-huit mois. Tous ceux que nous avons hospitalisés dans ce but, ont succombé aux atteintes de la maladie de Carré après quelques semaines d'hospitalisation.

Tous nos chiens ont pu être considérés comme indemnes de tuberculose après une épreuve négative à la tuberculine, ou après avoir fourni une déviation du complément négative par la méthode de Bordet-Gengou (1).

(1) Toutes nos déviations du complément ont été effectuées par M. THIERRY, du Laboratoire National de Recherches d'Alfort, que nous prions de bien vouloir agréer nos sincères et respectueux sentiments.

Nos épreuves à la tuberculine ont consisté en injections hypodermiques de cette substance.

EMULSION DE B. C. G.

Pour inoculer ces chiens, nous nous sommes servis d'émulsions fraîchement préparées par nos soins selon la technique que nous allons indiquer :

Après avoir étalé sur une table une large feuille de papier buvard, nous déposons sur un de ses coins un porte-coupelle.

A l'aide d'une pince soigneusement flambée, nous saisissons une coupelle dans l'enveloppe de papier stérile qui la contient et nous la couvrons d'une cloche. Nous plaçons à proximité le tube contenant la culture à émulsionner et une boîte de Pétri renfermant des lames de papier buvard pliées en quatre, stériles. Une spatule de nickel, soigneusement flambée, est mise dans un tube stérile, occlus par un tampon de coton flambé également.

Nous débouchons le tube contenant la culture et, après avoir refroidi la spatule sous la pomme de terre, nous prélevons avec soin les parcelles microbiennes qui sont alors déposées dans les replis du papier buvard, sans le sortir de la boîte de Pétri, où elles se dessèchent pendant 15 minutes.

Le mortier d'agate est alors sorti de l'eau iodée dans laquelle il est plongé. Après un lavage sérieux au sérum physiologique stérile (en prenant soin de ne pas souiller la face interne de ce mortier avec les doigts), il est égouté aussi complètement que possible.

Nous saisissons alors la coupelle avec une pince stérile, la déposons sur le plateau d'une balance et en effectuons la tare rigoureusement exacte. La coupelle

est enlevée, et remise sous cloche, et quand le quart d'heure nécessaire à l'essorage complet des particules microbiennes est écoulé, nous les déposons sur la coupelle à l'aide de la spatule qui a été flambée après ébullition.

Nous reportons la coupelle sur le plateau de la balance et effectuons la pesée exacte.

Avec la spatule bouillie et flambée à nouveau, nous déposons toutes les parcelles microbiennes dans le mortier d'agate, en ayant soin de bien nettoyer la spatule sur le pilon du mortier.

La trituration s'effectue à sec pendant 5 minutes au moins ; puis nous ajoutons une goutte de sérum physiologique et progressivement, mais très lentement, nous opérons la dilution au 1/200.

Cette émulsion est filtrée sur gaze après avoir été recueillie dans une éprouvette, puis mise en flacon stérile. Elle est prête à injecter.

INOCULATION SOUS-CUTANÉE

Dose. — Nous nous sommes strictement conformés à la dose que M GUÉRIN nous avait indiquée : 5 milligrammes par kilogramme d'animal, ce qui correspond à un centimètre cube de notre émulsion ; si nous considérons que chaque centigramme de culture essorée fraîche contient environ quatre cents millions de bacilles, nous avons une juste idée de l'importance de cette dose qui, d'ailleurs, en amenant sur deux sujets la formation d'abcès et en déclanchant sur tous une réaction générale importante, s'est montrée suffisante pour donner une idée exacte de la virulence du B.C.G.

Lieu d'élection. — Le point d'inoculation que nous

avons adopté est la région moyenne de l'encolure, du côté gauche. Ce lieu a été choisi pour la commodité de son exploration, la facilité avec laquelle on peut le préserver, le cas échéant, des atteintes par les griffes à l'aide d'un carcan, et enfin pour sa proximité du ganglion préscapulaire facilement explorable chez le chien.

A chaque inoculation, la peau a été tondue, rasée sur une large surface et désinfectée à la teinture d'iode, pour éviter toute infection surajoutée.

Résultat de cette inoculation. — Chaque inoculation a été marquée par une double réaction locale et générale.

Réaction locale. — Nous avons constaté en moyenne, dès la huitième heure après l'injection, l'existence d'une masse œdémateuse molle, englobant tout le quadrilatère représenté par la surface tondue, le débordant même parfois. Cette tuméfaction diffuse ne semblait nullement douloureuse.

Le lendemain, cette masse œdémateuse avait glissé en région inférieure de l'encolure sans diminuer de volume et ce n'est qu'au bout de 48 heures que nous relevions une légère résorption et la condensation autour du point d'inoculation en un placard plus dense, de 5 à 6 centimètres de diamètre environ, et très mobile sous la peau.

Le ganglion préscapulaire était tuméfié. Chez l'un de nos sujets, ce placard diminua progressivement jusqu'au moment où la sacrification fut pratiquée et c'est à peine si l'autopsie permit de constater un léger épaissement de la peau au point d'inoculation.

Chez un autre, ce nodule conserva les mêmes caractères, diminuant toutefois légèrement de volume et

l'autopsie le montra constitué d'une petite logette contenant un liquide huileux jaunâtre, et dont les parois étaient constituées par un tissu fibreux lardacé ; l'examen microscopique ne permit pas d'y déceler de bacilles.

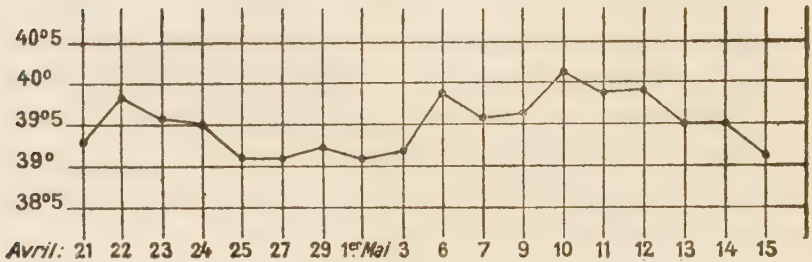
Deux autres sujets présentèrent une abcédation de ce nodule. Il resta volumineux jusqu'à l'ouverture qui se produisit spontanément une vingtaine de jours environ après l'inoculation, donnant écoulement à un liquide purulent dans lequel les bacilles acido-résistants abondaient. La plaie d'ouverture de ces abcès se transforma en véritable chancre à bords renversés qui ne se cicatrisa que très lentement.

Considérons le cas particulier d'un chien pesant 20 kilos. Il va recevoir 100 milligrammes de B.C.G., représentés par 20 centimètres cubes de la dilution au 1/200. La rapidité de l'apparition de la réaction œdémateuse et l'importance du nodule qui suivra cette inoculation n'ont rien qui doive surprendre si on compare cette dose à celle de 50 ou 100 milligr. que CALMETTE inoculait à des animaux de l'espèce bovine dans un but de vaccination, inoculation qui était suivie au bout de 24 heures d'une légère réaction œdémateuse, se densifiant en un nodule de la grosseur d'une noix ou d'un œuf de poule, pour disparaître complètement du 10^e au 18^e mois.

Et l'on conçoit de même assez bien la formation et l'évolution de ces abcès en tous points comparables à celui que CALMETTE obtenait en inoculant de 3 à 10 milligrammes au cobaye, abcès succédant à un œdème d'apparition rapide.

Réaction générale. — Tous nos animaux ont présenté une légère élévation de température entre le 15^e et le 20^e jour après l'inoculation, ainsi que le montre le graphique ci-contre représentant les températures

du chien n° 1, températures prises tous les matins, du 21 avril au 15 mai ; à noter que cet animal fit un abcès au point d'inoculation du B.C.G., abcès dont l'ouverture spontanée se produisit le 10 mai.



Indépendamment de cette poussée fébrile, ces chiens demeurèrent tristes, prostés, mangeant mal et tous maigriront. Cette période passée, la reprise d'état fut rapide.

CALMETTE attribue cette hypothermie tardive, accompagnée d'une atteinte de l'état général, à « une septicémie bacillaire consécutive au passage d'un plus ou moins grand nombre de corps microbiens dans la circulation sanguine ».

Réaction tuberculinique et déviation du complément. — Sur presque tous ces chiens, une hypodermotuberculation fut pratiquée quelque temps avant leur sacrifice et sur aucun il ne nous fut donné de constater l'élévation thermique significative d'une réaction positive.

Par contre, la déviation pratiquée avec le sang de tous les chiens se montra positive dans tous les cas sauf un, où elle était cependant suspecte.

Nous ne donnons pas ici de plus amples détails sur les variations que nous avons constatés dans ces réactions, nous réservant de les examiner plus soigneusement après avoir présenté nos observations.

Durée des expériences. — Nous avons fait varier cette durée de façon à saisir les modifications qui auraient pu se produire dans la virulence du B.C.G.

L'intervalle entre l'inoculation et la sacrification des sujets a été de 6 semaines pour l'un d'eux, de 2 mois pour deux autres et enfin de 4 mois 1/2 pour le dernier.

INOCULATION INTRA VEINEUSE

Doses. — Pour la plupart de nos chiens, nous avons suivi les conseils de M. GUÉRIN et injecté 1 milligr. par kilo d'animal soit 2/10 de centimètre cube de notre dilution au 1/200.

Deux sujets cependant ont reçu 3 milligr. par kilo, soit 6/10 de centimètre cube de la dilution sans pour cela présenter une réaction différente de celle des autres.

Lieu d'élection. — Nous avons utilisé pour nos injections indifféremment la jugulaire, la saphène et la radiale. Toutefois c'est à cette dernière que nous avons accordé la préférence ; l'hémostase y est plus facile à réaliser que sur la jugulaire ; elle est tout aussi accessible que la saphène et moins mobile sous la peau.

Réaction générale. — Contrairement à ce qui s'est passé pour l'expérience d'inoculation sous-cutanée, nous n'avons constaté ici le plus souvent ni la moindre élévation thermique, ni la plus petite atteinte de l'état général. Nos résultats sont d'ailleurs en cela ab-

solument conformes à ceux que CALMETTE a obtenus notamment dans les expériences qu'il a effectuées sur des jeunes bovins et relatées dans les annales de l'Institut Pasteur, le 15 septembre 1911, et à propos desquelles il écrivait en 1927 : « Ces bovidés ont reçu sans aucun dommage des doses énormes de nos bacilles biliés, jusqu'à 200 milligr. en injection intra-veineuse ».

Cependant, deux de nos chiens ont mérité une mention spéciale dans ce paragraphe. Le premier a fait une très légère élévation thermique, 5 à 6/10 de degré, 19 jours après l'inoculation du B.C.G. et a présenté un très léger amaigrissement ; tout ceci n'ayant d'ailleurs été que très passager. Le deuxième était un sujet très âgé, en mauvais état, atteint d'une néphrite chronique et porteur d'une lésion cardiaque. Il a été trouvé mort dans sa niche un matin, dans des conditions que nous relaterons plus loin, mais disons dès maintenant qu'il n'a présenté aucune élévation thermique ni aucune atteinte spéciale de son état général depuis l'inoculation de B.C.G.

Réaction tuberculinique et déviation du complément. — Sur 6 chiens pour qui une déviation du complément a été pratiquée, 3 ont présenté une déviation positive, 3 une déviation légèrement suspecte quelque temps après l'inoculation de B.C.G.

L'interprétation des réactions à la tuberculine est beaucoup plus compliquée et nous les étudierons de même que pour les expériences dans lesquelles l'inoculation a été effectuée par voie sous-cutanée, après avoir relaté nos observations.

Durée des expériences. — Nous avons suivi nos sujets plus longtemps dans cette expérience que dans l'expérience d'inoculation sous-cutanée.

C'est ainsi que si deux sujets ont été examinés pen-

dant 7 semaines seulement, trois le furent pendant 2 mois, un 3 mois 1/2 et un autre pendant 5 mois ; ce dernier nous a d'ailleurs permis d'avoir par la réaction à la tuberculine un aperçu sur l'élimination du B.C.G.

EXAMEN NECROPSIQUE

A l'exception d'un chien qui fut trouvé mort et dont nous avons déjà parlé, tous furent sacrifiés et autopsiés méticuleusement sitôt la mort.

Nous pouvons affirmer n'avoir jamais rencontré la moindre lésion qui eut pu être imputée à la tuberculose ; toutefois, au début de notre expérimentation, nous eûmes à constater la présence de petits nodules miliaires sur le rein, le foie et le poumon de certains chiens qui n'avaient manifesté aucune atteinte spéciale de leur état général.

L'inoculation de ces lésions au cobaye est restée sans effet. M. RINJARD, que nous avons consulté à ce sujet, nous donna le conseil de filtrer notre émulsion sur gaze avant de l'injecter. Ce conseil fut suivi et, par la suite, nous ne retrouvâmes jamais ces nodules. Cela semblerait bien indiquer qu'il y a là une relation de cause à effet et cependant CALMETTE écrit, à propos d'injections sous-cutanées de B.C.G. au cobaye : « les doses massives, à partir de 1 centigr., provoquent l'apparition sur le foie, la rate et les poumons, de petits follicules tuberculeux qui guérissent spontanément et disparaissent après quelques semaines sans laisser de traces. Ces tubercules ne sont jamais réinoculables ; leur présence n'altère pas la santé des animaux ».

Nous avons effectué quelques frottis à partir des ganglions trachéo-bronchiques et mésentériques. Leur coloration par la méthode de ZIEHL ne nous a jamais

permis de mettre en évidence des bacilles acido-alcoolo-résistants.

Dans les inoculations sous-cutanées, nous nous sommes toujours attachés à examiner soigneusement le nodule d'injection. Des frottis exécutés à partir du pus ou de la sérosité, existant toujours en ces points, ne nous ont permis qu'une fois de déceler des bacilles acido-alcoolo-résistants par la méthode de ZIEHL.

Les frottis, à partir des ganglions préscapulaires, ne nous ont jamais montré de bacilles.

INOCULATION AU COBAYE. — PASSAGE

Après chaque autopsie, nous avons inoculé au moins un cobaye à partir des ganglions trachéo-bronchiques, un autre à partir des ganglions mésentériques, après trituration de ces ganglions au mortier et dilution dans du sérum physiologique.

Par ailleurs, des inoculations à partir des ganglions préscapulaires lors d'inoculation sous-cutanée, à partir de nodules ou de follicules du poumon, en un mot de tout ce qui semblait suspect, furent effectuées pour chaque chien.

Jamais il ne nous a été donné de constater la mort par tuberculose d'un seul cobaye.

Cependant, un mourut accidentellement et deux autres présentèrent un épaissement de la plèvre.

Observations

OBSERVATION I

Chien de race commune, grande taille, âgé de 3 ans.

Parfaite santé, bon état d'entretien.

Séquestré dès son arrivée à l'Ecole, le 6 avril 1932, dans une niche désinfectée, et laissé en observation pendant une dizaine de jours.

Le 16 avril. — Prise de sang pour une déviation du complément. Le résultat étant négatif, nous décidons de lui inoculer du B. C. G.

Le 21 avril. — Poids: 16 kilogs ; température : 39°3. L'émulsion préparée le matin est inoculée le soir vers 14 heures.

Face gauche de l'encolure, région moyenne, rasée et aseptisée. Injection de 5 milligrammes de B. C. G. par kilog soit $5 \times 16 = 80$ milligrammes ou 16 centimètres cubes de la dilution au 1/200.

L'injection est pratiquée sans le moindre ennui.

Vers 21 heures la région est empâtée sur une surface de la largeur de la main.

Le 22 avril. — Température : 39°9, appétit conservé ; le sujet est toujours gai. Au point d'inoculation l'empâtement persiste avec la même étendue, mais plus consistant que la veille.

Le 23 avril. — Température : 39°6. Le nodule diminue légèrement de volume et se densifie.

Le 24 avril. — Température : 39°5. Mêmes caractères du nodule. A partir de ce moment, la température évolue autour de 39°, ainsi que l'indique le graphique publié ci-dessus page 26. Le nodule reste dur et volumineux.

Le 3 mai. — Température : 39°2. Le nodule semble le siège de phénomènes aigus ; l'animal se défend quand on veut en pratiquer l'exploration.

Le 6 mai. — Température : 39°9. Nodule noyé dans un placard œdémateux allongé, très sensible, envahissant la gouttière jugulaire pour remonter très haut en région parotidienne et provoquer une modification du timbre de la voix. Le ganglion pré-scapulaire réagit.

Le 7 mai. — Température : 39°6. Mêmes caractères du nodule. Appétit conservé, état général satisfaisant. Le sujet s'amaigrit cependant légèrement.

Le 9 mai. — Température : 39°7. Le nodule semble s'ab céder.

Le 10 mai. — Température : 40°2. La masse nodulaire est de plus en plus fluctuante.

Le 11 mai. — Température : 39°8. Le nodule s'est ouvert spontanément en partie déclive. Il s'en est écoulé un pus abondant qui souille l'épaule et le membre gauche ; pus huileux et légèrement teinté de rouge.

Des frottis effectués à partir de ce pus, colorés par les méthodes de Gram et de Ziehl nous ont permis de déceler des bacilles acido-résistants. Le cobaye N° 1, inoculé à partir de ce pus, ne manifesta aucun malaise et son autopsie pratiquée après sacrifice le 17 novembre ne permit de révéler aucune lésion spécifique.

Le 13 mai. — Température : 39°5. Le pus s'écoule toujours de l'abcès, mais en faible quantité. La réaction ganglionnaire diminue.

Par la suite, les températures relevées avoisinent 39°. L'ouverture de l'abcès se transforme en plaie ulcérée qui ne se referme que très lentement et dont la cicatrice étoilée, comparable à celle d'un chancre morveux, n'apparaît complète que le 10 juin.

A ce moment on ne sent plus qu'un épaississement de la peau.

Le 14 juin. — Légère élévation de la température (39°6), qui persiste sensiblement égale jusqu'au moment où, pour

faire une place dans le chenil nous décidons de sacrifier le sujet.

Le 21 juin. — Prise de sang. Séro-diagnostic plus suspect que pour les sujets 5 et 6 inoculés en intraveineuse et examinés dans les mêmes conditions. Sacrification par injection intracardiaque de strychnine. L'animal était en bon état.

Cavité abdominale. — Foie, rate, intestin normaux. Ganglions mésentériques volumineux, sans lésion apparente.

Reins : Petits kystes sous-capsulaires. Lésions de néphrite chronique.

Cavité thoracique. — Poumon droit : nombreux follicules translucides, de la grosseur d'une tête d'épingle. Poumon gauche : mêmes follicules, mais légèrement hémorragiques. Ganglions trachéo-bronchiques : assez volumineux, sans lésion apparente.

Nodule du point d'injection : derme épaissi, infiltré. Ganglion pré-scapulaire légèrement hypertrophié du côté gauche.

Inoculations. — *Cobaye N° 2* : Des lambeaux de poumon portant des follicules, triturés et émulsionnés, sont injectés sous la peau. Aucun accident. Sacrifié le 17 novembre 1932. Aucune lésion.

Cobaye N° 3 : Ganglions trachéo-bronchiques, triturés, émulsionnés, injectés sous la peau. Aucun accident. Sacrifié le 17 novembre. Aucune lésion.

Cobaye N° 4 : Même inoculation à partir des ganglions mésentériques. Aucun accident. Tué le 17 novembre. Sans lésion.

Cobaye N° 5 : Ganglion pré-scapulaire gauche injecté. Aucun accident. Sacrifié le 17 novembre. Aucune lésion.

OBSERVATION II

Chien berger de Beauce, âgé de 5 à 6 ans.

Très bonnes conditions de santé et d'entretien.

Arrivé à l'Ecole le 6 mai 1932, il est placé dans un box désinfecté.

Le 18 mai. — Prise de sang. Déviation du complément négative.

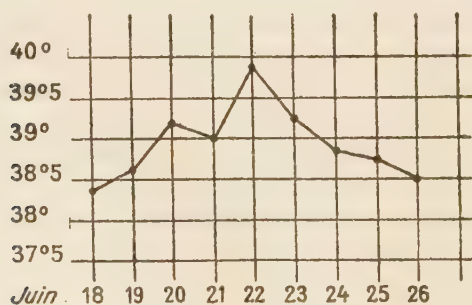
Le 3 juin. — Poids : 22 kilogs. Préparation de l'émulsion de B. C. G. Préparation du sujet. Antisepsie locale. Température du sujet : $38^{\circ}5$. Injection sous-cutanée sur le côté gauche de l'encolure à 14 heures.

Injection de 5 milligrammes par kilog, soit $5 \times 22 = 110$ milligrammes, ce qui correspond à 22 centimètres cubes de la dilution au 1/200.

Cette injection constitue un noyau important sous la peau et dès le soir, vers 20 heures, la région est largement envahie par une réaction œdémateuse.

Le 4 juin. — Température : $38^{\circ}4$; état général excellent. L'animal semble gêné cependant par le placard œdémateux. Il se gratte avec son membre postérieur et nous sommes obligés de lui envelopper le membre et de lui appliquer un carcan.

Dans les jours qui suivent, nous ne relevons aucune atteinte de l'état général ; l'appétit est excellent, l'embonpoint satisfaisant. L'animal ne se gratte plus. La masse œdémateuse se condense en un noyau dur, consistant, dont l'exploration ne provoque aucune réaction de défense de l'animal.



Nous notons, pendant la période qui s'étend du 18 au 25 juin, une baisse de l'appétit, un très léger amaigrissement et une élévation thermique que nous avons schématisée dans le tableau ci-dessus.

A partir de ce moment, le nodule, qui était demeuré aplati et du volume d'une noix, se rétracte de plus en plus, pour disparaître complètement au bout de six semaines.

Sur ce sujet nous n'avons jamais relevé d'hypertrophie du ganglion pré-scapulaire.

A partir du 26 juin l'état général redevient très bon, le sujet s'alimente parfaitement, aucune élévation thermique ne se produit.

Le 26 juillet. — Tuberculation par injection hypodermique de 1 centimètre cube de tuberculine. Cette injection ne provoque aucune élévation thermique.

Le 31 juillet. — Prise de sang, sérodiagnostic positif (15 doses minima). Sacrification par injection intraveineuse de chloroforme.

Autopsie. — *Cavité abdominale* : Foie, rate, reins, intestins, tout est normal. Ganglions mésentériques succulents, avec quelques petits foyers hémorragiques.

Cavité thoracique : Poumons, ganglions trachéo-bronchiques sans aucune lésion.

Nodule d'injection : Peau à peine épaissie.

Ganglion pré-scapulaire gauche absolument identique au droit.

Inoculations :

Cobaye N° 6 : Injection d'émulsion des ganglions mésentériques. Aucun accident. Sacrifié le 24 novembre. Sans lésion.

Cobaye N° 7 : Injection d'émulsion de ganglions mésentériques, aucune manifestation morbide consécutive. Sacrifié le 24 novembre. Aucune lésion. Frottis à partir du ganglion inguinal correspondant au point d'injection, ne permet pas de déceler de bacilles acido-résistants.

Cobaye N° 8 : Ganglions trachéo-bronchiques injectés. Aucun accident. Sacrifié le 24 novembre. Sans lésion.

OBSERVATION III

*Petite chienne fox-terrier anglais à poils ras, 12 ans environ
Obèse et atteinte de bronchite chronique.*

Placée dans un box désinfecté à son arrivée, le 10 février 1933.

Le 16 février. — Prise de sang. Déviation du complément négative.

Le 17 février. — Injection hypodermique de 1 centimètre cube de tuberculine : résultat négatif.

Le 22 février. — Poids du sujet : 10 kilogs. Préparation de l'émulsion de B. C. G. et, à 14 heures, inoculation sur la face gauche de l'encolure, région rasée et aseptisée.

Dose : 5 milligrammes par kilog, soit $5 \times 10 = 50$ milligrammes ou 10 centimètres cubes de l'émulsion au 1/200.

A ce moment, la température du sujet est de $38^{\circ}4$.

La région correspondant au point d'inoculation se montre empâtée dès le soir même.

Le 23 février. — Température : $38^{\circ}2$. La réaction œdémateuse a glissé en partie déclive.

Les jours suivants, elle se condense en un nodule moins aplati que sur les autres sujets. Ce nodule, du volume d'une noix, est dur, consistant, mais peu sensible à la palpation.

Etat général excellent, le sujet conserve son appétit, le ganglion pré-scapulaire subit une légère hypertrophie.

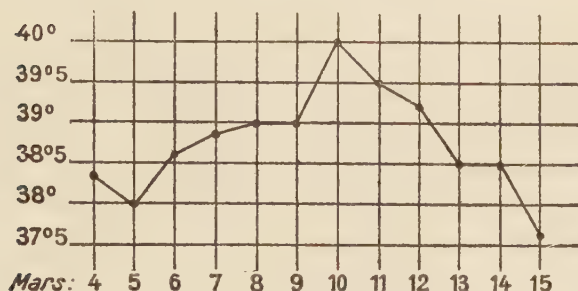
A partir du 6 mars une élévation thermique se produit, ainsi que l'indique le tableau ci-dessous :

Cette élévation thermique s'accompagne d'une disparition de l'appétit. L'animal demeure immobile dans le coin de son box, grelottant ; il semble exprimer une grande inquiétude par un faciès grimacé.

Le nodule du point d'injection est devenu plus douloureux.

Passé le 15 mars, tout rentre dans l'ordre, le nodule diminue de volume tout en restant très dur et très tendu. L'appétit redevient normal et l'animal reprend sa gaité habituelle.

Le 30 mars. — Tuberculation par injection de 1 centimètre cube de tuberculine sous la peau. Résultat négatif.



Le 10 avril. — Prise de sang. Déviation du complément positive. Sacrification du sujet par injection intraveineuse de 20 centimètres cubes d'éther.

Autopsie. — Nodule d'injection : logette à parois épaisses infiltrées, contenant un liquide huileux citrin, à peu près la valeur d'une cuiller à café. L'examen de ce liquide ne nous a pas permis d'y déceler de bacilles acido-résistants.

Le ganglion pré-scapulaire gauche est plus volumineux que celui du côté opposé ; sa coupe est normale.

Cavité abdominale : Foie, rate, reins, intestin, normaux. Ganglions mésentériques légèrement hypertrophiés, succulents.

Cavité thoracique : Poumons sans lésion, ganglions trachéo-bronchiques normaux.

Inoculations :

Cobaye N° 9 . Inoculation des ganglions mésentériques. Aucun accident. Ce cobaye met au monde et élève trois petits.

Sacrifié le 10 novembre. Aucune lésion.

Cobaye N° 10. — Inoculation des ganglions trachéo-bronchiques ; l'état de santé reste satisfaisant. Sacrifié le 21 juillet. Sans lésion.

OBSERVATION IV

Petit chien bâtard, 4 ans.

Bonnes conditions de santé et d'entretien.

Isolé dans une loge désinfectée le 8 février 1933.

Le 16 février. — Prise de sang. Déviation du complément légèrement suspecte.

Le 17 février. — Hypodermo-tuberculation par 1 centimètre cube de tuberculine diluée au 1/10. Résultat complètement négatif.

Malgré la suspicion légère de tuberculose pesant à la suite de la déviation du complément, nous décidons d'inoculer ce chien.

Le 22 février. — Poids : 13 kg. 500 ; antisepsie en région moyenne de la face gauche de l'encolure. Préparation de l'émulsion.

Injection de 5 milligrammes de B. C. G. par kilog, soit $13,5 \times 5 = 67$ mgr. 5 ou 13 centimètres cubes de l'émulsion au 1/200.

La température du sujet s'élève à 39°.

Réaction œdémateuse au point d'inoculation le soir même.

Le 23 février. — Température : 38°5. Tuméfaction diffuse englobant la gouttière jugulaire jusqu'à l'épaule. Puis, comme chez les autres chiens, cette tuméfaction se densifie et rapidement se délimite très nettement. Chez ce chien nous n'avons jamais relevé une élévation thermique importante, c'est à peine si le 12 mars la température atteignait 39°5.

Par contre, ce sujet a eu un appétit très capricieux du 5 au 20 mars, ce qui a coïncidé avec une période d'amaigrissement.

Localement, au point d'injection, le nodule demeuré fluctuant est ponctionné avec une aiguille le 10 mars. Cette ponction donne écoulement à un liquide de couleur eau de roche très abondant, dont la centrifugation, l'étalement sur lames

et la coloration par la méthode de Ziehl permettent de déceler des bacilles acido-résistants en assez grande abondance. Aucun autre germe n'a été mis en évidence.

Réaction très nette du ganglion pré-scapulaire.

Après cette ponction le liquide se reforme rapidement et cet abcès devait s'ouvrir spontanément le 15 mars.

Cette ouverture présente les caractères déjà rencontrés : Plaie large circulaire, à bords renversés, granuleuse qui, ne se fermant que très lentement, laisse une cicatrice étoilée comme celle du sujet N° 1.

Le 30 mars. — Hypodermo-tuberculation : 1 centimètre cube de tuberculine. Résultat négatif.

Le 15 juillet. — Prise de sang. Déviation du complément positive. Sacrification par injection d'éther en intraveineuse.

Autopsie. — *Nodule d'injection* : Il ne reste que la cicatrice, derme épaissi, très légèrement infiltré.

Ganglion pré-scapulaire pas plus volumineux à gauche qu'à droite.

Cavité abdominale : Foie, rate, reins, intestin tous normaux.

Ganglions mésentériques normaux.

Cavité thoracique. — Aucune lésion sur les poumons et la plèvre.

Ganglions trachéo-bronchiques normaux.

Inoculations :

Cobaye N° 11. — Injection d'émulsion de ganglions pré-scapulaires.

Le cobaye reste bien portant. Il est sacrifié le 10 novembre et ne présente aucune lésion.

Cobaye N° 12. — Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Aucun accident. Sacrifié le 10 novembre. Il ne présente aucune lésion.

Cobaye N° 13. — Injection d'émulsion de ganglions mésentériques. Rien d'anormal ne se produit. Sacrifié le 10 novembre, il ne présente aucune lésion.

OBSERVATION V

Petit chien bâtard âgé de 18 mois.

Parfait état de santé, embonpoint satisfaisant.

Abandonné par son propriétaire parce qu'il avait mordu un enfant, nous l'isolons dans une loge désinfectée le 5 avril 1932.

Le 15 avril. — Prise de sang. Déviation du complément négative.

Le 16 avril. — Hypodermo-tuberculation : 1 centimètre cube de tuberculine. Résultat négatif. Nous décidons de lui inoculer du B. C. G.

Le 21 avril. — Poids : 12 kilogs. Température : 38°9.

Préparation de l'émulsion de B. C. G. et inoculation de 1 milligramme par kilog, soit $1 \times 12 = 12$ milligrammes ou 2 cmc. 4 de la dilution au 1/200.

L'injection effectuée vers 14 heures, conduite lentement dans la veine radiale gauche après tonte et asepsie locale, se poursuit sans le moindre incident ; c'est à peine si après avoir retiré l'aiguille un petit hématome périveineux se constitue, qui disparaît six heures après l'injection.

Le 22 avril. — Température : 39°1. Aucun trouble n'est constaté ; le sujet est en parfaite santé.

Le 23 avril. — Température : 39°. Aucune manifestation morbide. Le sujet mange, s'alimente très bien et c'est à peine si le 9 mai la température atteint 39°3, et le 10 mai 39°4. A ce moment, le sujet, délaissant une partie de sa ration, il s'amaigrit légèrement, puis rapidement tout rentre dans l'ordre.

Cependant, le 19 juin nous relevons une température de 39°5. Le 20 de 39°8 et le 21 de 39°9, l'état général restant satisfaisant. Nous sommes obligés de sacrifier ce sujet, la période des examens approchant.

Le 21 juin. — Prise de sang. Déviation du complément légèrement suspecte.

Sacrification par injection intraveineuse de 20 centimètres cubes d'air.

Autopsie. — *Cavité abdominale* : Foie, rate sans lésion. Intestin : plaques de Peyer très visibles ; des frottis effectués à partir de ces plaques, colorés par la méthode de Ziehl, ne permettent pas de déceler de bacilles acido-résistants.

Reins petits, granuleux, quelques kystes.

Ganglions mésentériques volumineux sans lésion macroscopique.

Cavité thoracique : Poumons normaux. Ganglions trachéo-bronchiques sans lésion.

Inoculations :

Cobaye N° 14. — Inoculation d'émulsion de ganglions mésentériques. Il meurt accidentellement le 26 juin. L'autopsie ne révèle aucune lésion.

Cobaye N° 15. — Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Aucun accident ne se produit. Sacrifié le 24 novembre, il ne présente aucune lésion.

OBSERVATION VI

Chienne croisée de berger allemand, 9 ans environ.

Parfaites conditions de santé, maigre.

Isolée le 10 avril dans une niche désinfectée.

Le 19 avril. — Prise de sang. Déviation du complément

Le 21 avril. — Température : 39°1. Poids : 16 kilogs. Préparation de l'émulsion de B. C. G. Injection lente, dans la saphène du membre gauche, de 1 milligramme de B. C. G. par kilog. Soit $1 \times 16 = 16$ milligrammes ou 3 cent. cubes 2 de la dilution au 1/200.

Un petit hématome qui se forme après l'enlèvement de l'aiguille, était disparu le soir même.

Le 22 avril. — Température : 38°6. Aucun trouble.

Par la suite, la prise régulière de température n'a jamais

permis de déceler la moindre élévation thermique. Le sujet est toujours resté gai et son état stationnaire.

Le 21 juin. — Température : 38°7. Prise de sang. Déviation du complément légèrement suspecte.

Sacrification par injection intracardiaque de 20 centimètres cubes d'air.

Autopsie. — *Cavité abdominale* : Foie, intestin normaux. Rate hypertrophiée, sa surface est irrégulière, présente de nombreuses chagrinures, mais aucune lésion spécifique.

Reins, néphrite aiguë dégénérative : Nombreux îlots blancs jaunes mal délimités, séparés par des îlots rouges identiques. Ganglions mésentériques **normaux**.

Cavité thoracique : Anthracose pulmonaire très importante. Ganglions trachéo-bronchiques **normaux**.

Inoculations :

Cobaye N° 16 : Injection d'émulsion de ganglions mésentériques. Il se porte à merveille jusqu'au 17 novembre, date de sa sacrification. L'autopsie pratiquée ne permet de déceler aucune lésion spécifique.

Cobaye N° 17. — Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Il demeure en parfaite santé. Sacrifié le 17 novembre : aucune lésion.

OBSERVATION VII

Grande chienne bergère, sans race définie, 10 ans environ.

Obèse et en état de gestation avancée.

Isolée dans une niche désinfectée le 15 mai 1932.

Met au monde le 28 mai un chiot que nous lui laissons.

Le 31 mai. — Hypodermo-tuberculation : injection de 1 cmc. 1/2 de tuberculine. Résultat négatif.

Le 3 juin. — Température : 38°3. Poids : 25 kilogs. Préparation de l'émulsion de B. C. G. Injection de 1 milligramme par kilog, soit $1 \times 25 = 25$ milligrammes, ce qui correspond à 5 centimètres cubes de la dilution au 1/200.

Injection lente dans la veine jugulaire gauche après avoir rasé et aseptisé la région. L'injection poursuivie sans aucun incident, un léger hématome se produit après l'enlèvement de l'aiguille.

Le 4 juin. — Température : 38°. Hématome à peu près complètement résorbé. Etat général excellent.

Cette chienne a allaité, en plus de son chiot, quatre petits bleus d'Auvergne. Un de ces derniers, que nous avons suivi, est en parfaite santé et n'a jamais manifesté le moindre malaise.

Nous avons perdu de vue les autres chiots, qui étaient tous très gras et en parfaite santé au moment du sevrage.

Cette chienne, alimentée comme tous les chiens hospitalisés à l'Ecole d'Alfort, a donc élevé cinq chiots sans aucun préjudice de son état général ; sa température, prise régulièrement tous les matins, n'a subi aucune élévation.

Le 26 juillet. — Hypodermo-tuberculation. 1 cmc. 1/2 de tuberculine. Résultat négatif.

Le 31 juillet. — Prise de sang. Déviation du complément légèrement suspecte. Sacrification par injection intraveineuse de chloroforme.

Autopsie. — *Cavité abdominale* : Intestin, foie, rate normaux.

Reins granuleux. Capsule adhérente : néphrite chronique. Ganglions mésentériques normaux.

Cavité thoracique : Poumons : un nodule dur, de la grosseur d'une bille, est découvert dans le parenchyme du poumon droit. Ganglions trachéo-bronchiques normaux.

Inoculations :

Cobaye N° 18 : Injection d'émulsion de ganglions mésentériques. Il se porte très bien. Sacrifié le 17 novembre : son autopsie révèle un léger épaissement de la plèvre.

Cobaye N° 19 : Injection d'émulsion de ganglions mésentériques. Parfaite santé. Sacrifié le 17 novembre : ganglion inguinal correspondant au point d'inoculation légèrement volumineux. Un frottis effectué à partir de ce ganglion, coloré par la méthode de Ziehl, permet de mettre en évidence des bacilles acido-résistants.

Cobaye N° 20 : Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Il conserve une excellente santé. Sacrifié le 17 novembre : aucune lésion.

Cobaye N° 21 : Inoculation d'émulsion du nodule pulmonaire. Il se porte très bien. Sacrifié le 17 novembre : aucune lésion.

OBSERVATION VIII

Chienne bergère de race commune, 8 ans.
Atteinte d'obésité et d'emphysème pulmonaire.

Isolée dans une loge désinfectée le 8 février 1933.

Le 16 février. — Hypodermo-tuberculation : 1 cmc. 1/2 de tuberculine. Résultat négatif. Sang prélevé avant la tuberculation : Déviation du complément légèrement suspecte.

Le 22 février. — Température : 39°1. Poids : 20 kg. 500. Préparation d'une émulsion de B. C. G. A 14 heures, injection intraveineuse (veine radiale gauche, région préparée et aseptisée).

Dose : 1 milligramme par kilog, soit : $20,5 \times 1 = 20$ mgr. 5 ou 4 cmc. 10 de la dilution au 1/200. .

L'injection est conduite lentement, aucun incident ne se produit.

Le 23 février. — Température : 38°5. Etat général excellent.

Nous n'avons jamais relevé la plus petite élévation de température sur cet animal. Son appétit a toujours été très bon et il a conservé un excellent état.

Le 30 mars. — Hypodermo-tuberculation : 1 cmc. 1/2 de tuberculine. Résultat négatif.

Le 10 avril. — Température : 38°6. Prise de sang : déviation du complément positive.

Sacrification par injection intracardiaque de strychnine (arséniate de).

Autopsie. — *Cavité abdominale* : Foie, rate, reins, ganglions mésentériques normaux.

Cavité thoracique : Poumons : lésions d'emphysème chronique. Ganglions trachéo-bronchiques normaux.

Inoculations :

Cobaye N° 22 : Injection d'émulsion de ganglions mésentériques : aucune manifestation morbide ne se produit. Sacrifié le 21 juillet : aucune lésion. Nous effectuons un frottis à partir du ganglion pré-scapulaire de ce cobaye ; après coloration par la méthode de Ziehl nous ne relevons aucun germe acido-résistant.

Cobaye N° 23 : Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Etat général toujours excellent. Sacrifié le 21 juillet : aucune lésion.

OBSERVATION IX

Chien croisé de berger allemand, 9 ans.

Isolé le 8 février 1933 dans une niche désinfectée. Son mauvais état général et son faciès amaigri attirant notre attention, nous effectuons une analyse d'urine qui nous permet de mettre en évidence la présence d'albumine ; ceci nous porte à croire que le sujet est atteint de néphrite chronique.

Le 15 février. — Prise de sang. Déviation du complément négative.

Le 16 février. — Hypodermo-tuberculation : 1 cmc. 1/2 de tuberculine. Résultat négatif.

Le 22 février. — Température : 38°8. Poids : 17 kg. 500. Malgré sa néphrite chronique, nous décidons de lui inoculer du B. C. G. Préparation de l'émulsion. Injection lente dans la veine radiale gauche (peau rasée et aseptisée au préalable).

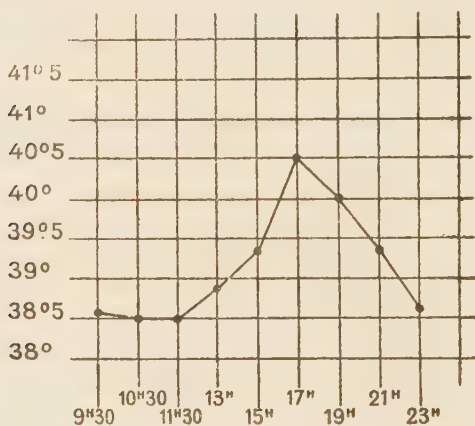
Dose : 1 milligramme par kilog, soit $1 \times 17,5 = 17$ mgr. 5 ou 3 cmc. 5 de la dilution au 1/200.

Le 23 février. — Température : 38°8. Etat général excellent.

Par la suite, ce sujet ne présente aucune manifestation morbide, il se nourrit régulièrement, mangeant peu, mais buvant, comme tous les néphritiques, beaucoup d'eau.

Nous n'avons jamais constaté d'élévation thermique.

Le 30 mars. — Hypodermo-tuberculation : 1 cmc. 5 de tuberculine. Ceci permet d'établir le graphique suivant, qui est le tableau schématique d'une réaction positive :



Le sujet vivait dans une cage aménagée pour recueillir les urines. Notre camarade MONPERT étudia son métabolisme chloré. Après l'avoir soumis, du 15 au 21 mai, à un régime déchloruré, il lui fit absorber, du 21 au 30 mai, des quantités assez importantes de chlorure de sodium qui furent marquées par une augmentation très nette de poids.

Remis dans sa niche le 1^{er} juin, il retomba brusquement au régime normal. Continuant à se bien porter, il ne présenta aucune élévation thermique.

Le 6 juin. — Nous eûmes la surprise de le trouver mort. Il avait mangé sa ration de la veille. L'autopsie, pratiquée le 7 juin au matin, nous a révélé :

Cavité abdominale : Remplie d'un abondant épanchement non inflammatoire, elle présentait en outre un foie atteint de cirrhose, des lésions de néphrite chronique. La rate, l'intestin et les ganglions mésentériques étaient normaux.

Cavité thoracique : Épanchement non inflammatoire. Plèvre

infiltrée. Péricarde normal. Cœur hypertrophié, présentant des lésions d'endocardite végétante. Poumons normaux. Ganglions trachéo-bronchiques normaux. Il semble bien que cet animal atteint de cirrhose hépatique, de néphrite chronique et d'endocardite, a fait ces épanchements lors de l'administration de sel (période du 21 au 30 mai), l'augmentation de poids qui se produisit à ce moment devait lui être due.

Cet animal paraît bien avoir succombé à une syncope cardiaque.

Inoculations :

Nous n'avons pu inoculer les ganglions mésentériques, l'autopsie étant tardive.

Cobaye N° 24 : Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Il se porte très bien. Sacrifié le 15 novembre : aucune lésion.

Cobaye N° 25 : Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Parfaite santé. Sacrifié le 15 novembre : aucune lésion.

OBSERVATION X

Chienne de chasse, âgée de 7 ans environ.

Parfaite santé, bon état d'entretien.

Isolée dans une niche désinfectée le 8 février 1933.

Le 15 février. — Prise de sang. Déviation du complément négative.

Le 16 février. — Hypodermo-tuberculation : 1 cmc. 1/2 de tuberculine. Résultat négatif.

Le 22 février. — Température : 38°8. Poids : 15 kg. 500.

Préparation de l'émulsion de B. C. G. Région préparée et aseptisée au niveau de la veine radiale gauche.

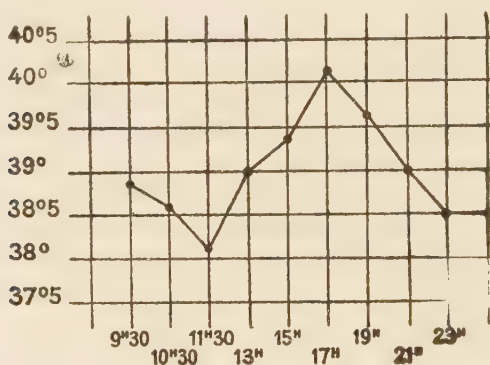
Injection de 3 milligrammes par kilogramme, soit $15,5 \times 3 = 46$ mgr. 5 ou 9 centimètres cubes de la dilution au 1/200.

Injection conduite lentement et poursuivie sans incident.

Le 23 février. — Température : 38°2. Le petit hématome qui s'était constitué au point d'inoculation est complètement résorbé.

Par la suite, ce sujet ne fait aucune élévation thermique et ne manifeste aucune atteinte de l'état général. Appétit toujours très bon. Etat d'entretien **stationnaire**.

Le 30 mars. — Hypodermo-tuberculation : 1^e cmc. 5 de tuberculine. Le résultat positif est schématisé dans le graphique ci-dessous :



Le 10 avril. — Prise de sang. Déviation du complément positive. Température : 38°6. Sacrification par injection intra-veineuse de chloroforme.

Autopsie. — *Cavité abdominale* : Intestin, foie, rate, reins normaux. Ganglions mésentériques légèrement hypertrophiés, section d'apparence normale.

Cavité thoracique : Poumons, cœur, ganglions trachéo-bronchiques normaux.

Inoculations :

Cobaye N° 26 : Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Il conserve une excellente santé. Sacrifié le 21 juillet : aucune lésion.

Cobaye N° 27 : Injection d'émulsion de ganglions mésentériques. Il reste bien portant. Sacrifié le 21 juillet : aucune lésion. Nous effectuons un frottis à partir d'un ganglion pré-scapulaire : la coloration de ce frottis par la méthode de Ziehl ne permet pas de déceler des bacilles acido-résistants.

OBSERVATION XI

Chien croisé de berger allemand, 6 ans environ.

Excellente santé. Plutôt maigre.

Isolé le 8 février 1933 dans une loge désinfectée.

Le 15 février. — Prise de sang. Déviation du complément négative.

Le 16 février. — Hypodermo-tuberculation : 1 cmc. 1/2 de tuberculine. Résultat négatif.

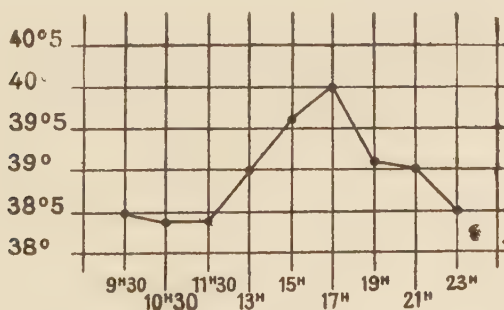
Le 22 février. — Température : 39°4. Poids : 13 kg. 500. Préparation de l'émulsion de B. C. G. Peau rasée et aseptisée au niveau de la veine radiale gauche.

Injection de 3 milligrammes par kilogramme, soit $3 \times 13,5 = 40$ mgr. 5 ou 8 cmc. 10 de la dilution au 1/200.

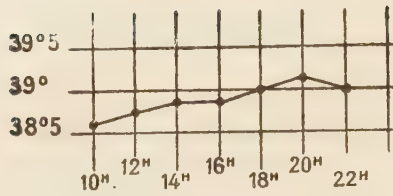
Le 23 février. — Température : 38°9. L'hématome du point d'injection est complètement résorbé. Etat général excellent.

Par la suite nous n'avons jamais relevé d'élévation thermique chez cet animal qui s'est toujours maintenu en bon état, mangeant régulièrement et conservant toujours sa gaieté.

Le 30 mars. — Hypodermo-tuberculation : 1 cmc. 5 de tuberculine. Résultat positif consigné dans le schéma ci-dessous :



Le 20 juillet. — Nouvelle tuberculination, même méthode, même dose. Résultat négatif schématisé ci-dessous :



Ce même jour, prise de sang avant la tuberculation.
Déviation du complément positive.

Le 21 juillet. — Température : 38°5. Sacrification par injection intraveineuse de chloroforme.

Autopsie. — *Cavité abdominale* : Intestin, foie, rate, reins, tous organes normaux. Ganglions mésentériques normaux.

Cavité thoracique : Poumons, cœur, ganglions trachéo-bronchiques normaux.

Inoculations :

Cobaye N° 28 : Injection d'émulsion de ganglions mésentériques. Il conserve une parfaite santé. Sacrifié le 14 novembre : aucune lésion.

Cobaye N° 29 : Injection d'émulsion de ganglions trachéo-bronchiques. Il conserve une excellente santé. Sacrifié le 14 novembre : aucune lésion.

Après l'exposé de ces observations, examinons rapidement l'ensemble des réactions à la tuberculine ainsi que les déviations du complément, pratiquées après les inoculations de B.C.G.

INOCULATION SOUS-CUTANÉE

A. — *Tuberculation*

Chez trois animaux (sujets 2, 3 et 4), la tuberculation a été effectuée après l'inoculation de B.C.G.

Aucun n'a présenté de réaction positive à la tuberculine.

Nous sommes, dès lors, conduits, pour expliquer ce résultat, à émettre des hypothèses ; ou bien nos injections de tuberculine ont été pratiquées à un intervalle de temps trop rapproché de l'inoculation de B.C.G. pour l'apparition de l'allergie ; ou bien, d'autre part, l'injection de B. C. G. étant très massive, nous sommes en présence de sujets en état d'anergie, sur lesquels l'injection de tuberculine ne peut provoquer aucune réaction.

B. — DÉVIATION DU COMPLÉMENT

Si nous considérons l'ensemble des expériences I, II, III, un fait surprend ; dans l'expérience I, pas d'injection de tuberculine, déviation légèrement suspecte. Au contraire, dans les expériences II et III, allergie tuberculinique négative mais déviation positive, le sang étant prélevé 8 jours après l'injection de tuberculine. On pourrait supposer que cette déviation positive est en rapport avec l'injection de tuberculine. Il apparaît bien, d'après les constatations d'Antonio GUALDI, qu'une injection préalable de cette substance n'influence pas la réaction de fixation. Aussi nous sommes portés à estimer que seule cette dernière méthode, plus sensible, permet de révéler sûrement la présence du B.C.G. dans l'organisme du chien, et que la tuberculine n'est pas, à cet égard, un test suffisamment fidèle.

INOCULATION INTRA-VEINEUSE

A. — Réaction tuberculinique

Deux sujets (X et XI) ayant reçu chacun 3 milligr. de B.C.G. par kilo, présentent 5 semaines après l'inoculation une réaction positive à la tuberculine, réaction qui devient négative pour l'un d'eux (XI) 5 mois après.

Un sujet (IX) ayant reçu 1 milligr. de B.C.G. par kilo, réagit positivement à la tuberculine 5 semaines après l'inoculation (ce sujet était très âgé, atteint de cirrhose hépatique, de néphrite et d'endocardite) ; par contre, deux autres sujets (VII et VIII), mieux portants, ayant reçu également 1 milligr., ne réagissent nullement à la tuberculine, l'un (sujet VIII), 5 semaines, l'autre (sujet VII), 7 semaines après l'inoculation.

B. — Déviation du complément

Deux sujets (V et VI) ayant reçu 1 milligr. de B.C.G. présentent une déviation légèrement suspecte 2 mois après l'inoculation, à noter qu'un sujet (I) ayant reçu une dose plus grande de B.C.G. sous la peau, et examiné dans les mêmes conditions, a donné une déviation plus suspecte.

Le sujet VII ayant reçu 1 milligr. de B.C.G., présente 2 mois après l'inoculation une déviation légèrement suspecte, alors que sa réaction à la tuberculine à la même date est négative.

Le sujet VIII ayant reçu 1 milligr., présente 7 semaines après une déviation positive, alors que 10 jours avant, l'injection de tuberculine qui lui a été pratiquée est demeurée sans résultat.

Comme pour l'inoculation sous-cutanée, nous n'ac-

cordons aucun crédit à l'influence de la tuberculine, et un fait analogue retrouvé encore chez le sujet XI nous invite à croire comme dans l'expérience d'inoculation sous-cutanée, à une sensibilité plus grande de la méthode de déviation du complément.

Conclusions

I. — La tuberculose est une maladie fréquente chez le chien.

Contaminé par l'homme, porteur de bacilles humains, le chien tuberculeux devient un danger pour ceux qui vivent autour de lui.

II. — La vaccination est le seul moyen capable de mettre le chien à l'abri des atteintes de la tuberculose.

III. — L'inoculation sous-cutanée de B.C.G. au chien s'accompagne toujours de la formation d'un nodule vaccinal, qui peut s'abcéder, et d'une réaction générale importante.

IV. — Le nodule vaccinal, même lorsqu'il s'abcède, ne contient que des bacilles acido-résistants, dépourvus de virulence, donc très probablement des B.C.G.

V. — L'inoculation intra-veineuse de B.C.G. au chien n'est suivie d'aucune réaction générale appréciable.

VI. — Quels que soient la dose et le mode d'introduction du B.C.G., celui-ci ne produit, dans le délai de 2 à 5 mois, aucune lésion viscérale ou ganglionnaire.

VII. — L'inoculation au cobaye, des ganglions du chien qui a reçu des doses considérables de B.C.G., reste constamment négative.

VIII. — Il nous est donc possible de conclure que le B.C.G. n'est pas pathogène pour le chien et que son passage dans l'organisme de cet animal ne lui confère aucune virulence pour le cobaye.

Vu :

LE DOYEN,
ROUSSY.

Vu :

LE PRÉSIDENT,
Léon BERNARD.

Vu et permis d'imprimer

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE DE PARIS,
S. CHARLETY.

Bibliographie

- ALMOTH E. WRIGHT (Sir). — *1^{er} Congrès international de Microbiologie*, Paris, 1930.
- BERNARD (Léon). — *Communication faite à l'Académie de Médecine*, le 22 décembre 1931, sur le drame de Lubeck.
- BEERENS (J.). — Innocuité des injections sous-cutanées répétées de B. C. G. pour le cobaye. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 110, 1932, p. 898.
- Essais d'exaltation de la virulence du B. C. G. *Annales de l'Institut Pasteur*, N° 4, octobre 1933, t. LIV.
- BOQUET et NÈGRE. — Sur la fixité des caractères d'atténuation de la virulence du B. C. G. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 103, 1930, p. 290.
- BOQUET. — Sur les propriétés pathogènes du B. C. G. (à propos des expériences de Sasano et Medlar). *Annales de l'Institut Pasteur*, 47, 1931, p. 117.
- CADIOT. — *La Tuberculose du chien*, 1893.
- CALMETTE. — *La vaccination préventive contre la tuberculose, par le B. C. G.*, 1927.
- *Séance de l'Académie de Médecine*, le 24 février 1931.
- CALMETTE, BOQUET et NÈGRE. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 35, septembre 1921, p. 561 ; 36, septembre 1922, p. 625 ; 38, mai 1924, p. 399.
- CALMETTE et GUÉRIN. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 21, juillet 1907, p. 531.
- *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, t. 150, 2 novembre 1909 ; t. 151, 4 juillet 1910.
- *Annales de l'Institut Pasteur*, 27, février 1913 ; 26, avril 1914 ; 34, septembre 1920, p. 553 ; 38, mai 1924.

- Vaccination anti-tuberculeuse par le B. C. G. Le B. C. G. peut-il reprendre de la virulence ? *Recueil de Médecine vétérinaire*, octobre 1931, p. 531.
- CALMETTE et WILBERT (R.). — Expériences de vaccination des singes contre la tuberculose. *Annales de l'Institut Pasteur*, 39, août 1925, p. 641.
- DEINSE (F. Van). — Sur le sort éloigné de cobayes avec l'ultra-virus tuberculeux et le B. C. G. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, III, octobre 1932, p. 373.
- DOUVILLE. — *De la tuberculose des carnivores domestiques*, 1910.
- DREYER (G.) et VOLLUM (R.). — *The Lancet*, 1931.
- GERLACH (F.), SILVIO SEGRE et BROSCHE (J.). — Ueber Versuche einer Virulenzsteigerung des B. C. G. *Centralbl. f. Bakt.*, I, t. CXXVII, 1933, p. 312.
- GOURVITCH (B. M.) et KOSMINSKAIA (E. I.). — Etude expérimentale des propriétés virulentes et immunisantes de la culture vaccinale de Calmette-Guérin (B. C. G.). *Rev. Vétér. et Journal de Médecine vétérinaire*, mai 1933.
- GUALDI (Antonio). — Le comportement du pouvoir complémentaire du sérum sanguin dans le choc tuberculinique. *Rev. de Path. e. Clin. d. tubercolosi ann.*, VII, fasc. 6.
- GUÉRIN (C.). — Etat de la question de la prémunition anti-tuberculeuse chez les bovidés par le B. C. G. en France. *Recueil de Médecine vétérinaire de l'Ecole d'Alfort*, 109, N° 1, 1933, p. 5.
- HEELSBERGEN (Van). — Le B. C. G. peut-il récupérer de la virulence ? *Pathologie et Thérapeutique*, 1932, p. 275.
- JENSEN. — *Deutsche Zeitschrift für Thiermedizin*, 1891.
- JOST. — Contribution à la fréquence de la tuberculose du chien et du chat. *Zeitschrift für Fleisch- und mitchhygiène*, 1^{er} mai 1921.
- LESBOUYRIES. — Recherches et considérations sur la tuberculose des carnivores domestiques. *Thèse*, Paris, 1926.

- LEVITAN (J. M.) et LEKHOFF (D. D.). — Contribution à l'étude de l'influence des injections répétées de B. C. G. sur les singes. *Annales de l'Institut Pasteur*, t. L, juin 1933, pp. 749-754.
- LIEGEOIS et BERTRAND. — Tuberculose cutanée du chien. *Annales de Médecine vétérinaire*, janvier 1929.
- LIGNIÈRES. — Contribution à l'étude des qualités pathogènes du vaccin B. C. G. contre la tuberculose. *Bulletin de l'Académie de Médecine*, 26 juillet 1927.
- MAURIAD et AUBERTIN. — De la vaccination par le B. C. G. chez les animaux rendus expérimentalement malades par divers processus. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1930, t. XLIV, p. 171.
- MICHAIL (D.) et VANCEA (P.). — Sur la kératite expérimentale produite par le bacille bilié de Calmette et Guérin. *Société de Biologie de Cluj*, séance des 26 mai et 1^{er} juillet, p. 288.
- MIHAILESCU (M.). — Contribution à l'étude de la tuberculose canine en Roumanie. *Revue générale de Médecine vétérinaire*, N° 446, 15 février 1929.
- MOREAU (J.) et TORTORELLA (A.). — Essais d'exaltation de la virulence du B. C. G. chez le cobaye infecté de streptococcus cavioe. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, séance du 14 novembre 1931, p. 717.
- MOURIQUAND et BERTOYE. — Résultats de l'inoculation du bacille B. C. G. à des animaux soumis à un régime carencé. *Bulletin de l'Académie de Médecine*, 7 mai 1929.
- MOUSSU (G.). — Vaccination anti-tuberculeuse par le B. C. G. Peut-il reprendre de la virulence ? *Recueil de Médecine vétérinaire*, t. CVII, N° 8, août 1931, p. 451.
- MÜCH (H.). — *Conférence à Hambourg*, août 1930.
- NASTA (M.), JOVIN (I.) et BLECKMANN (M.). — Absence de toxicité du filtrat et de la culture de B. C. G. pour le cobaye soumis à l'action des rayons X. *Société de Biologie de Bucarest*, séance du 3 décembre 1931, p. 1277.

- NÈGRE (L.) et VALTIS (J.). — Sur les éléments filtrables du B. C. G. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 107, juin 1931, p. 774.
- Contribution à l'étude expérimentale du B. C. G. *Annales de l'Institut Pasteur*, 49, 1932, p. 595.
- PANISSET. — *Les maladies des animaux transmissibles à l'homme*, p. 17.
- PETIT (G.). — *Congrès international de la Tuberculose*, 1905.
- SAENZ (A.). — Recherches expérimentales sur les effets réciproques du B. C. G. et des infections concomitantes par le bacille de Preiz-Nocard et par le streptocoque étudié par Hormaeche à Montevideo. *Annales de l'Institut Pasteur*, 47, 1931, p. 221.
- Peut-on rendre le B. C. G. virulent par les cultures sur milieux à l'œuf et l'acide sulfurique selon Loewenstein-Hohn ? *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 106, 1931, p. 156.
- Influence du bacille de Preiz-Nocard sur le B. C. G. inoculé en série par voie péritonéale. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 106, 1931, p. 433.
- Sur la culture du B. C. G. en profondeur dans le bouillon. *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 108, 1931, p. 854.
- SAENZ (A.) et COSTIL (L.). — Stabilité des caractères biologiques du B. C. G. — *C. R. S. B.*, 1^{er} décembre 1932, p. 879.
- SANCTIS MONALDI (T. DE). — La culture du B. C. G. dans le sang de cobaye selon la méthode de Wright. *C. R. S. B.*, 107, p. 225.
- Le B. C. G. peut-il devenir virulent par culture dans le sang total de lapin ? *C. R. S. B.*, 107, 1931, p. 495.
- L'acide lactique ne rend pas le B. C. G. virulent. *C. R. S. B.*, 107, 1931, p. 969.
- Sur la fixité des caractères biologiques du B. C. G. cultivé en séries sur les milieux alcalins ou acides. *III^e Congrès international de Pathologie comparée*, 1932.
- SANCTIS MONALDI (T. DE) et BASSI (U.). — Sur l'inoculation intracornéenne de B. C. G. aux jeunes lapins. *Annales de l'Institut Pasteur*, 49, 1932, p. 416.

- STOIANOV (D. I.). — Contribution à l'étude de la stabilité du B. C. G. Expériences faites sur des animaux avitaminés. *Faculté de Médecine de Sofia*, 1932, pp. 267-290.
- VALTIS (J.) et SAENZ (A.). — Effets conjugués de l'ultravirus tuberculeux et du B. C. G. chez le cobaye. *C. R. S. B.*, 101, juin 1929, p. 351.
- VALTIS (J.) et VAN DEINSE (F.). — Le B. C. G. peut-il devenir virulent par culture sur filtrats tuberculeux ? *C. R. S. B.*, 106, 1931, p. 1109.
- VALTIS (J.) et SANCTIS MONALDI (T. DE). — Sur les modifications du ph. des cultures en milieu synthétique de Sauton du bacille bilié B. C. G. — *C. R. S. B.* 107, 1931, p. 1249.

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	7
Chapitre Premier. — La tuberculose canine....	11
Fréquence. — Danger pour l'homme.....	11
Fréquence	11
Danger de contamination de l'homme par le chien	14
Chapitre II. — Principe de la vaccination. — Cultures, conservation	21
Chapitre III. — Historique de la virulence du B. C. G.....	27
Chapitre IV. — Etude de la virulence du B. C. G. chez le chien.....	47
Observations	57
Conclusions	81
Bibliographie	83

